

SÉRIE A, n° 179
N° D'ORDRE : 201

THÈSES

PRÉSENTÉES

À LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

RAOUL LECOQ

Docteur en Pharmacie

Ancien Interne des Hôpitaux de Paris

1^{re} Thèse. — **Recherches expérimentales sur les vitamines B
contenues dans les levures, dans leurs extraits et
dans leurs milieux de culture.**

2^e Thèse. — **Les levures symbiotes des Insectes.**

Soutenues le

, devant la Commission d'examen

Président : M. PORTIER
Examineurs { M. MOUTON
 { M. GUILLIERMOND

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE, 23

1928

SÉRIE A, n° 179

N° D'ORDRE : 201

THÈSES

PRÉSENTÉES

ALA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

RAOUL LECOQ

Docteur en Pharmacie

Ancien Interne des Hôpitaux de Paris

1^{re} Thèse. — **Recherches expérimentales sur les vitamines B
contenues dans les levures, dans leurs extraits et
dans leurs milieux de culture.**

2^e Thèse. — **Les levures symbiotes des Insectes.**

Soutenues le

, devant la Commission d'examen

Président : M. PORTIER

Examineurs { M. MOUTON
M. GUILLIERMOND

— ❧ —

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE, 23

1928

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyens honoraires P. APPELL, M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires
 P. PUISEUX.
 V. BOUSSINESQ.
 A. JOANNIS.
 H. LE CHATELIER.
 H. LEBESGUE.
 A. FERNBACH.
 A. LEDUC.

Emile PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
 G. KÖNIGS Mécanique physique et expérimentale.
 E. COURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
 P. JANET Electrotechnique générale.
 F. WALLERANT . . . Minéralogie.
 H. ANDOYER Astronomie.
 P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
 Gabriel BERTRAND . . Chimie biologique.
 M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
 M. CAULLERY Zoologie (Evolution des êtres organisés).
 G. URBAIN Chimie minérale.
 Emile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
 L. MARCHIS Aviation.
 Jean PERRIN Chimie physique.
 Rémy PERRIER Zoologie (Enseignement P. C. N.).
 H. ABRAHAM Physique.
 M. MOLLIARD Physiologie végétale.
 E. CARTAN Géométrie supérieure.
 L. LAPICQUE Physiologie générale.
 E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des transformations.

Professeurs
 A. COTTON Physique générale.
 J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
 Charles FABRY . . . Physique.
 Charles PÉREZ . . . Zoologie.
 Léon BERTRAND . . . Géologie structurale et géologie appliquée.
 R. LESPIEAU Théories chimiques.
 E. RABEAU Biologie expérimentale.
 P. PORTIER Physiologie comparée.
 E. BLAISE Chimie organique.
 P.-A. DANGEARD . . Botanique.
 Paul MONTEL Mécanique rationnelle.
 P. WINTREBERT . . . Anatomie et histologie comparées.
 O. DUBOSCQ Biologie maritime.
 G. JULIA Mathématiques générales.
 A. JOB Chimie générale.
 A. MAILHE Etudes de combustibles.
 L. LUTAUD Géographie physique et géologie dynamique.
 Eugène BLOCH . . . Physique théorique et physique céleste.
 Henri VILLAT Mécanique des fluides et applications.
 Ch. JACOB Géologie.
 P. PASCAL Chimie appliquée.



E. HÉROUARD Zoologie.	E. DARMOIS Physique.
E. PÉCHARD Chimie (Enseig ^t P. C. N.).	G. BRUHAT Physique.
V. AUGER Chimie analytique.	H. MOUTON Chimie physique.
M. GUICHARD Chimie minérale.	L. JOLEAUD Paléontologie.
A. GUILLET Physique.	M. JAVILLIER Chimie biologique.
G. MAUGUIN Minéralogie.	A. DUFOUR Physique (P. C. N.).
L. BLARINGHEM . . Botanique.	F. PICARD Zoologie (Évolution des
A. MICHEL-LÉVY . . Pétrographie.	êtres organisés).
A. DEREIMS Géologie.	ROBERT-LÉVY . . . Zoologie.
R. DONGIER Physique du Globe.	L. DUNOYER Optique appliquée.
A. DENJOY Calcul différentiel et intégral	A. GUILLIERMOND . Botanique (P. C. N.).
H. BÉNARD Physique (P. C. N.).	A. DEBIERNE Radioactivité.

Secrétaire Daniel TOMBECK

A Madame LUCIE RANDOIN

*Directeur du Laboratoire de Physiologie
du Centre de Recherches sur l'Alimentation
(Institut des Recherches Agronomiques)*

A Monsieur PAUL PORTIER

*Professeur à la Faculté des Sciences de Paris
et à l'Institut Océanographique*

*Hommage de respectueuse
reconnaissance.*

A MON PÈRE — A MA MÈRE

A MA FEMME

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LES VITAMINES B

contenues dans les Levures
dans leurs extraits et dans leurs milieux de culture

INTRODUCTION

Les levures et les préparations à base de levures, après avoir joui en thérapeutique d'une grande vogue au début de ce siècle, se sont trouvées, il y a quelques années, presque complètement délaissées, sans qu'on puisse en donner d'autres raisons que l'inconstance des effets obtenus.

Avant de jeter sur les levures un discrédit aussi injustifié, on pouvait se demander si les produits utilisés sous des noms identiques étaient toujours de même composition, d'activité comparable, et s'ils répondaient aux plus élémentaires exigences des essais biologiques.

Pendant longtemps, on s'est appliqué surtout à conserver, avec plus ou moins de succès, les ferments et particulièrement la zymase, en pensant toutefois (et cela bien avant la découverte des vitamines) que le principe actif des levures était sans doute « un produit accessoire différent ».

Aujourd'hui, le rôle des vitamines B dans la nutrition est trop connu pour qu'on n'ait pas cru devoir établir — un peu schématiquement peut-être — une relation de cause à effet entre la présence de ces facteurs hydrosolubles dans les levures et l'activité de celles-ci. Sans vouloir être si absolu, il convient cependant de reconnaître que les levures et les extraits alcooliques des levures ont une action physiologique incontestable. Malheureusement, il semble qu'on oublie trop souvent qu'il n'y a pas *une*, mais *des levures*, et que celles-ci (levures de brasserie ou de distillerie) peuvent acquérir sans doute des propriétés variables avec les milieux de culture sur lesquels elles se développent.

C'est cette différence d'action entre des levures d'origine connue que nous nous sommes proposé de mettre en évidence. Nous appuyant sur l'analyse biologique, systématiquement pratiquée, nous avons voulu également en chercher les raisons. C'est ainsi que nous avons été conduit à pénétrer davantage l'étude de ce complexe vitaminique, qu'on appelait encore, il y a quelques années, du nom de « vitamine hydrosoluble B ». Parallèlement à nos travaux, la dualité de ce complexe est apparue, peu à peu, aux investigateurs de tous les pays, comme un fait de moins en moins discutable. A notre tour, nous fournirons dans ce travail les raisons qui nous conduisent à penser qu'il n'y a pas une, mais plusieurs vitamines B et que celles-ci sont inégalement réparties dans les levures et dans leurs milieux de cultures.

* * *

La question des vitamines a pris, en moins d'une vingtaine d'années, une si grande importance que, pour en faire actuellement une bonne bibliographie, il faudrait lui consacrer tout un volume. Il existe, dans cet ordre d'idées, tant en France qu'à l'étranger, de si excellents traités, que nous ne saurions chercher, au cours de ces quelques pages, à les concurrencer. Quoique nous ayons étudié le problème depuis longtemps déjà et que nous nous soyons reporté à un grand nombre de travaux originaux, nous n'avons voulu citer au cours de cet exposé de nos recherches que les références indispensables, craignant par-dessus tout le vain étalage d'une fausse érudition.

Les vitamines sont, comme on sait, des substances encore indéterminées chimiquement, mais dont l'action physiologique est bien connue : l'organisme humain, comme l'organisme animal, paraît incapable de s'en passer. Dans les conditions d'un régime normalement équilibré, ces substances, à doses minimales, se révèlent indispensables à l'accomplissement des phénomènes vitaux. Leur absence, ou *carence*, suffit à déterminer des troubles de la nutrition, tels que le béri-béri, le scorbut, la xérophtalmie, qu'on désigne sous le nom d'*avitaminoses* ou de *maladies par carence*.

On peut concentrer les vitamines des divers principes nutritifs, sous forme d'extrait, en deux fractions : l'une, soluble dans l'eau et dans l'alcool, est dite *hydrosoluble* ; l'autre, soluble dans les lipides en général, est dite *liposoluble*.

La fraction hydrosoluble se subdivise elle-même en deux groupes : les vitamines B qui préviennent ou guérissent le béri-béri et la polynévrite aviaire et les vitamines C qui sont connues

par leurs propriétés antiscorbutiques. C'est dans le groupe B que se rangent les vitamines des levures.

Déjà, en 1913, CASIMIR FUNK avait retiré des levures, à côté de la vitamine antibériberique proprement dite, deux autres substances : l'une connue, l'acide nicotinique, et l'autre inconnue, sur le rôle complémentaire desquels on pouvait épiloguer (1). On avait opposé, par la suite, la vitamine antibériberique curative des crises polynévritiques du Pigeon et la vitamine B nécessaire pour la croissance du Rat dont on avait primitivement admis l'identité. MITCHELL (2), EMMETT et LUROS (3), Mme L. RANDOIN et SIMONNET (4), en particulier, se demandèrent s'il n'y avait pas deux substances voisines répondant aux besoins différents de deux espèces animales. FUNK et DUBIN avaient, en outre, montré la possibilité de fractionner l'activité des autolysats de levure : certaines parties conservaient un pouvoir nettement antinévritique, tandis que d'autres permettaient le développement du Rat ou favorisaient la croissance des micro-organismes (5).

En 1925, quand nous avons commencé ces recherches, la pluralité du facteur B (dont la levure était connue comme l'une des meilleures sources), apparaissait de plus en plus, comme évidente ; il ne manquait que d'en fournir la preuve expérimentale sur le même animal.

Nous avons choisi, pour nos recherches, le *Pigeon* de préférence au Rat. Nous exposerons, du reste, nos raisons dans le chapitre suivant. Mais, quoique nous n'en faisons pas mention, bon nombre des faits observés ont été contrôlés, par nous, parallèlement sur le Rat ; les résultats obtenus nous ont paru, dans la limite de la sensibilité de cet animal, tout à fait concordants.

Les expériences entreprises nécessitaient, d'une part, d'importantes séries d'animaux ; d'autre part, un matériel encombrant et une installation toute particulière.

Nous avons très heureusement trouvé le meilleur accueil auprès de M. le Professeur PORTIER, qui a bien voulu présider cette thèse, et de Mme RANDOIN, qui nous a fait bénéficier de sa précieuse collaboration, tous deux ayant mis leurs laboratoires respectifs à notre disposition. Notre travail a été fait presque entièrement au Centre de Recherches sur l'Alimentation (Institut des Recherches Agronomiques), où nous avons pu suivre un à un nos sujets d'expérience, dans la salle d'animaux et les

(1) C. FUNK. *Journ. of Physiol.*, 1913, 46, p. 173.

(2) H. H. MITCHELL. *Journ. of biol. Chem.*, 1919, 40, p. 39.

(3) A. D. EMMETT et G. O. LUROS. *Journ. of biol. Chem.*, 1920, 43, p. 265.

(4) Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, 7, p. 678.

(5) C. FUNK et H. E. DUBIN *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, 1921, 19, p. 15.

locaux annexes pour préparation de régimes synthétiques, spécialement aménagés par Mme RANDOIN.

Au moment de publier nos résultats, nous restons confondu devant la multiplicité des inconnues du problème à résoudre et devant le nombre des expériences utiles que nous pourrions entreprendre encore pour confirmer ou amplifier les données acquises. Nous ne pouvons que nous en excuser, car le réactif-animal, obligatoirement choisi, représente un obstacle sérieux à l'accumulation des expériences. La plupart des essais doivent être, en effet, de très longue durée. Pour chacun d'entre eux, il faut considérer la mise en œuvre de quantités importantes de substances purifiées et d'extraits. La préparation des régimes artificiels employés demande donc, non seulement un temps considérable, mais encore d'importants crédits. Cependant, tout imparfaits qu'ils soient, les résultats que nous avons obtenus apportent quelques clartés dans une question jusque-là des plus discutées et des plus confuses. C'est à ce titre que nous espérons avoir fait œuvre utile.

Que M. le Professeur PORTIER, toujours bienveillant et affable et d'une si haute compétence, veuille bien agréer nos très sincères et très vifs remerciements pour les encouragements qu'il nous a prodigués et pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant la présidence de notre thèse.

Les heures d'amicales discussions, au cours desquelles nous avons, avec Mme RANDOIN, essayé de pénétrer plus avant dans la connaissance d'un sujet qui lui est depuis longtemps familier, resteront toujours vivaces dans notre souvenir. Il nous est agréable, à ce propos, de lui témoigner notre vive gratitude et notre respectueuse sympathie. Les conseils et l'aide éclairés que nous lui devons, nous ont été d'un précieux secours et nous ont permis de surmonter bien des obstacles.

Nous avons été également très honoré de l'intérêt qu'a bien voulu porter à nos travaux M. le Dr CASIMIR FUNK, avec lequel nous avons cherché l'influence des différents extraits de levure sur la croissance des micro-organismes. Nous le prions d'accepter ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

Nous remercions également tous ceux qui, d'une façon ou de l'autre, ont favorisé notre travail, en mettant à notre disposition les renseignements techniques, le temps, le matériel ou les ressources dont ils disposaient : nous distinguerons plus spécialement à cet effet : Mlles A. MICHAUX et DE RORTHAYS, MM. DALISSIER, CHAPPELLE, PÉNAU, SIMONNET, ALQUIER, REGNOULT et STUSSI, dont nous avons très fréquemment mis la bienveillance à contribution.

CHAPITRE I

Choix d'un régime de base satisfaisant et d'un animal-réactif sensible pour l'étude des vitamines des levures.

Pour pouvoir apprécier, qualitativement et quantitativement, la teneur des levures et des extraits de levure en vitamines B, il importait d'avoir à notre disposition : 1^o un régime de base bien défini renfermant tous les principes nutritifs indispensables, en proportions convenables, à l'exception des vitamines B ; 2^o un animal réactif suffisamment sensible pour traduire rapidement et objectivement les imperfections du régime essayé. Du fait qu'on ignore encore à peu près tout de la nature chimique des vitamines, la *méthode biologique* est, en effet, la seule qui puisse fournir des résultats satisfaisants.

Pour ces recherches, on utilise habituellement le Pigeon et le Rat ; ce dernier animal étant employé peut-être plus fréquemment encore que le Pigeon, parce qu'il est moins encombrant, d'un prix de revient moins élevé et qu'il demande relativement moins d'entretien. C'est cependant sur le Pigeon que les observations les plus typiques ont été faites en ce qui concerne l'évolution de l'avitaminose B ; avitaminose qui est constituée, comme on sait, par un ensemble de symptômes digestifs et nerveux, qui rappelle par plus d'un point le béribéri humain et que l'on désigne sous le nom de *polynévrite aiguë*.

Le plus simple des régimes producteurs de polynévrite est le riz blanc décortiqué ; il est d'un emploi facile, mais comporte, en dehors de la carence en vitamine B, de nombreuses insuffisances. Plutôt que de chercher à combler ces insuffisances en complétant le riz au moyen de substances purifiées, comme l'ont proposé SALMON et LIVINGSTON (1), il y a avantage, semble-t-il, à adopter un régime mieux défini, plus synthétique, tel que celui que Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET ont préconisé (2), ou une variante très proche que nous avons également utilisé et qui produit des effets identiques.

(1) W. D. SALMON et C. W. LIVINGSTON. *J. Home Econom.*, 1925, 17, p. 129.

(2) Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET. *C. R. Ac. Sc.*, 1923, 177, p. 903.

Ces régimes, uniquement privés de vitamines B, et dont nous avons toujours obtenu satisfaction, répondent à la composition centésimale ci-après :

	I Régime type.	II Autre régime.
Muscle purifié.....	7,5	»
Caséine purifiée.....	8,5	6
Fibrine purifiée.....	»	5
Ovalbumine purifiée.....	»	5
Graisse de beurre.....	4	4
Dextrine.....	66	66
Agar-agar.....	8	8
Papier filtre.....	2	2
Mélange salin d'Osborne et Mendel (1).....	4	4



Fig. 1. — Pigeon en crise polynévritique.

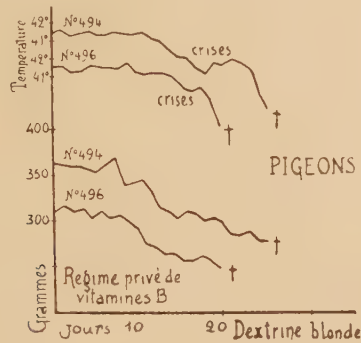
Le mélange salin (*artificial protein-free milk*, sans lactose) se prépare avec les éléments suivants :

CO ² Ca.....	134,8	PO ⁴ H ³	103,2	Citrate de fer.	6,34
CO ² Mg.....	24,2	HCl.....	53,4	IK.....	0,030
CO ² Na ²	34,2	SO ⁴ H ²	9,2	SO ⁴ Mn.....	0,079
CO ² K ²	141,2	Acide citrique cristallisé.....	111,1	FN.....	0,240
				(SO ⁴) ² AlK....	0,0245

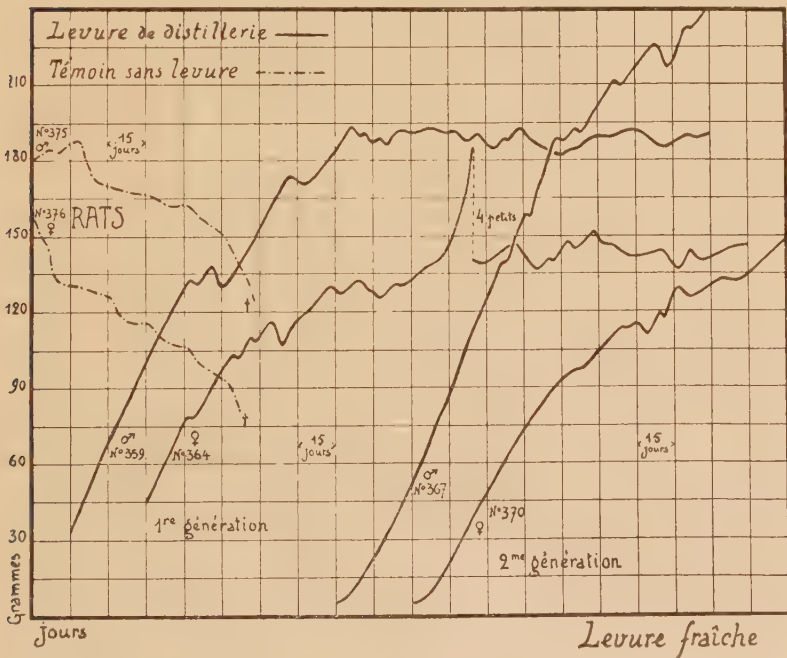
Données *par gavage*, à la dose de 20 gr. par jour, l'une et l'autre ration fournissent au Pigeon l'apport énergétique qui lui est théoriquement nécessaire. Il suffit, en effet, de les compléter, en remplaçant une partie de dextrine par une quantité suffi-

(1) T. B. OSBORNE et L. B. MENDEL. *Journ. of biol. Chem.*, 1919, 37, p. 557.

sante de levure de bière (bonne source de vitamines B) pour qu'elles deviennent capables d'assurer l'entretien, le dévelop-



Graphique I. — Evolution de l'avitaminose B chez un Pigeon soumis à un régime défini, à base de dextrine, exclusivement dépourvu de vitamines B.



Graphique II. — Les jeunes Rats privés de vitamines B (trait discontinu) dépérissent et meurent ; au contraire, leur régime étant complété par une dose suffisante de levure de distillerie fraîche, ils se développent normalement et se reproduisent.

pement normal et, le cas échéant, la guérison des sujets en expérience,

En l'absence totale de vitamines B, comme cela se trouve réalisé dans les conditions précédentes, l'animal se comporte très différemment (voir *graphique I*). Pendant les dix premiers jours (période d'incubation), on observe peu de choses : le poids et la température centrale restent à peu près stationnaires. Puis, du dixième au quinzième jour, en même temps que le Pigeon maigrit, la température diminue et des troubles digestifs et nerveux se manifestent. Il semble que, pendant cette période, l'animal lutte contre une intoxication interne, si grave qu'elle est parfois suivie de mort brutale. S'il résiste, comme c'est la règle, des accidents nerveux typiques apparaissent (troubles moteurs, sensoriels et cérébelleux) qui, en quelques jours de crises, aboutissent à la mort, celle-ci survenant normalement (suivant la résistance de l'animal et son poids initial), entre le dix-septième et le vingt-septième jour de l'expérience.

Un régime très voisin du précédent a été préconisé également pour le Rat blanc par Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET (1) ; nous en reproduisons ci-après la composition centésimale (en substituant toutefois la dextrine au saccharose) :

Caséine purifiée.....	6
Ovalbumine purifiée.....	6
Fibrine purifiée.....	6
Graisse de beurre.....	10
Dextrine.....	68
Mélange salin d'Osborne et Mendel.....	4
Papier filtre.....	<i>ad libitum.</i>

Le développement des jeunes recevant ce régime à volonté est rapidement déficitaire. Privés de vitamines B, les animaux dépérissent lentement, mais progressivement, et meurent, au bout de cinquante à soixante jours (quelquefois plus s'ils sont adultes) présentant, le plus souvent, des symptômes nerveux qui rappellent les accidents polynévritiques du Pigeon. Le *graphique II* nous montre la chute de poids typique des rats carencés en vitamines B ; il suffit, par contre, d'ajouter à la ration une quantité suffisante de levure de fraîche distillerie pour voir les rats se développer normalement ainsi que les petits qui naissent de leur accouplement.

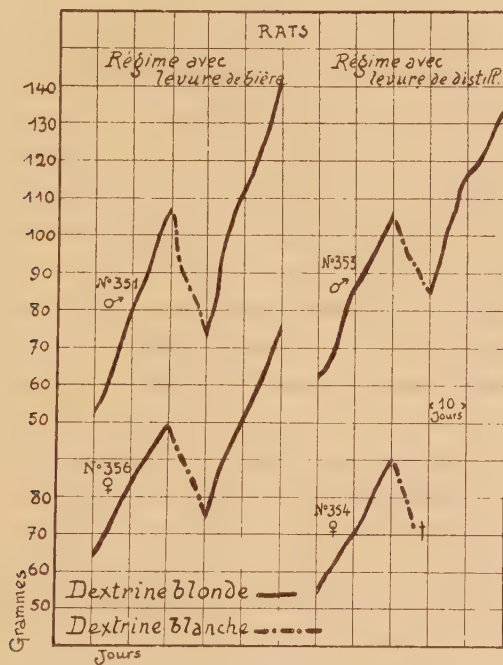
* * *

Un petit détail de technique mérite toutefois d'être précisé. Dans la constitution des régimes, *il n'est pas indifférent de faire entrer n'importe quelle dextrine* (1).

(1) Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, 179, p. 1219.

(1) Mme L. RANDOIN et R. LECOQ. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1926, (8), 4, p. 289.

La dextrine est, comme chacun sait, un mélange de polysaccharides (amylodextrine, érythrodextrine, achroodextrine) résultant de l'hydrolyse de l'amidon sous l'influence de la chaleur, de la diastase (amylase) ou des acides dilués. Elle répond approximativement à la formule $(C^{12}H^{10}O^5)^n$ et se présente, dit le *Codex français* (2), sous l'aspect d'une poudre amorphe *blanche ou légèrement jaunâtre*, se dissolvant dans l'eau en donnant un liquide épais et visqueux, se colorant en rouge vineux par l'eau iodée.



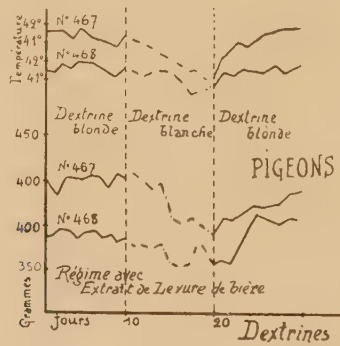
Graphique III. — La substitution de la dextrine blanche à la dextrine blonde dans le régime des jeunes Rats suffit à provoquer une chute de poids rapide et entraîne la mort des animaux quand elle est suffisamment prolongée.

Nous appuyant sur cette définition, nous avons voulu préparer les régimes précédemment cités (dûment complétés par addition de levures ou d'extrait de levure) à partir de deux variétés de dextrine différentes : une *blonde* et une *blanche*. Toutes deux, préparées par le même fabricant, avaient été obtenues par simple action de la chaleur. La blanche avait été soumise à la *dextrination* simple, aux environs de 150°-160°, tandis que la jaune avait subi un commencement de *grillage*, aux environs de 200°. Or, ce grillage supplémentaire nous a paru avoir une grande importance sur la digestibilité du produit.

(2) *Codex medicamentarius gallicus*, Paris, 1908, p. 193.

Tandis que la dextrine blonde était bien supportée, l'emploi de la dextrine blanche n'allait pas sans inconvénient (voir *graphique III*). Les jeunes Rats étaient arrêtés dans leur développement et des chutes de poids importantes intervenaient aussitôt : chutes de poids qui cessaient immédiatement dès que les animaux recevaient à nouveau le régime à base de dextrine blonde.

Les observations faites sur le Pigeon étaient tout à fait comparables. La ration étant administrée par gavage, l'influence d'une inanition vraie, même partielle, ne pouvait être mise en cause. Cependant, tandis que le régime complet à base de dextrine blonde permettait aux animaux de conserver leur poids et de maintenir constante leur température centrale, il n'en était pas de même avec le régime à base de dextrine blanche, puisque, pendant toute cette période, on notait une baisse sensible du poids et de la température. Par contre, il suffisait de changer à nouveau de régime pour que les Pigeons reviennent progressivement à la santé.



Graphique IV. — L'emploi de dextrine blanche au lieu de dextrine blonde dans la constitution d'un régime artificiel complet suffit à provoquer chez le Pigeon une chute rapide du poids et de la température centrale.

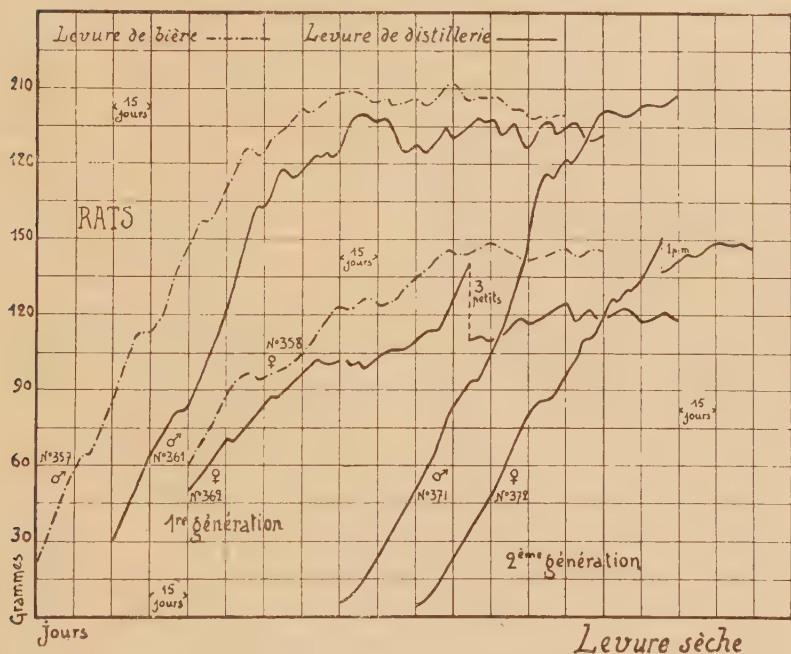
Il s'agissait, ici, d'une inanition secondaire causée par le manque absolu de digestibilité de la dextrine blanche. En effet, les intestins des animaux sacrifiés nous sont apparus, à l'autopsie, uniformément remplis d'un mastic blanc et épais, où la dextrine se retrouvait à peu près inattaquée.

* *

Compte tenu de cette précaution à prendre, on se trouvait, en définitive, posséder deux bons régimes : l'un pour le Pigeon et l'autre pour le Rat, également satisfaisants. Restait à faire un choix entre ces deux animaux. Longtemps, nous les avons

utilisés parallèlement ; mais nous avons dû finalement nous rendre à l'évidence et reconnaître la supériorité du Pigeon.

En effet, le Pigeon présente des crises beaucoup plus nettes que le Rat ; sa maladie évolue beaucoup plus rapidement et l'animal lui-même est moins soumis aux variations individuelles du fait qu'il peut être *gavé* au lieu d'être abandonné, mangeant au gré de son appétit et de ses réactions propres. Avec ses



Graphique V. — Les jeunes Rats recevant quotidiennement, comme unique source de vitamines B, 0 gr. 75 de levure de bière (trait discontinu) ou de distillerie (trait plein) séchée à l'air libre aux environs de 50°, se comportent sensiblement de même.

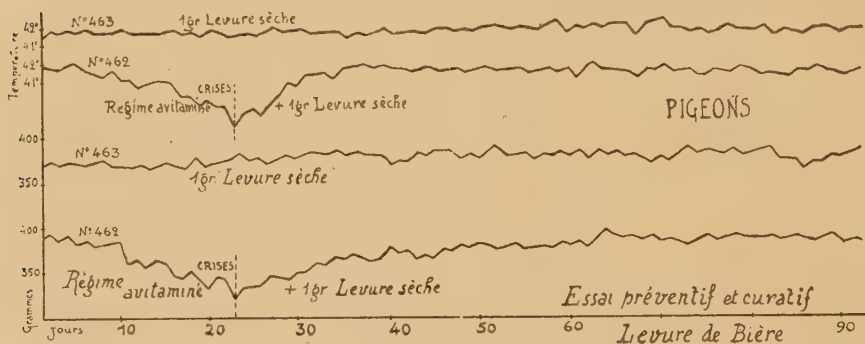
accidents typiques, le Pigeon offre, en outre, l'avantage de permettre d'effectuer l'essai des sources de vitamines B de deux manières différentes : soit en ajoutant les substances à étudier dès le début de l'expérience (*méthode préventive*), soit, au contraire, aussitôt après l'apparition des premières crises nerveuses (*méthode curative*).

La *sensibilité* des deux animaux réactifs est également très différente, celle du Pigeon l'emportant de beaucoup sur celle du Rat. Il nous est du reste facile d'en fournir la preuve par l'essai comparatif ci-après.

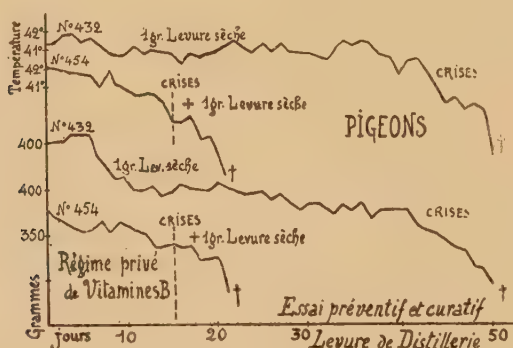
Rats et Pigeons ont été soumis aux deux régimes précédemment décrits et complétés par addition de *cinq pour cent* de deux

types de levures, séchés à l'air à 50°, à savoir : une levure de bière et une levure de distillerie.

Les deux sortes de levures (voir *graphique V*) ont paru sensiblement de même activité pour le Rat, alors qu'elles se sont révélées, pour le Pigeon, de valeur très différente. En effet, tandis que, à la même dose, la levure de bière avait une action préventive et curative certaine sur la polynévrite expérimentale (avitaminose B), la levure de distillerie était à peu près sans action



Graphique VI. — A la dose journalière de 1 gr., la levure de bière sèche complète parfaitement le régime synthétique privé de vitamines B, et suffit à assurer l'entretien des Pigeons et à guérir les crises de polynévrite expérimentalement provoquées. La survie est ensuite pratiquement indéfinie.



Graphique VII. — A la dose journalière de 1 gr., la levure de distillerie sèche donnée à titre préventif ne permet guère qu'une survie de 20 à 25 jours, tandis que son action curative est sensiblement nulle.

curative et ne prolongeait que fort peu la vie des animaux quand elle était donnée à titre préventif (v. *graph. VI et VII*).

Dans ces conditions, il nous a semblé préférable de nous adresser au Pigeon, animal d'une plus grande sensibilité et permettant des conclusions plus sûres. Nous le regrettons d'autant moins que nous avons l'impression d'avoir mis ainsi en évidence quelques faits nouveaux, que nous exposerons dans ce travail et que nous essaierons d'expliquer.

CHAPITRE II

Levures et extraits de levure envisagés comme sources de vitamines B.

On peut dire que, jusqu'en 1926, l'unanimité des auteurs considérait les levures, en général, comme exceptionnellement riches en vitamines B.

Cependant, KENNEDY et PALMER avaient déjà émis quelques doutes sur la valeur biologique uniforme des levures, celles qu'ils employèrent ne leur ayant pas toujours donné, sur le Rat, les résultats qu'ils se croyaient en droit d'attendre. Ils parlèrent d'une influence possible du moût, mais reconnurent aussi que fréquemment les levures industrielles sont fraudées par addition d'amidon ou d'autres substances (1). Un peu plus tard, LEVENE et MUHLFELD enregistrèrent au cours de leurs essais, poursuivis sur le Rat et sur le Pigeon, des différences importantes. Certaines levures (Fleischmann's yeasts) se révélèrent particulièrement inférieures (2). Il est vrai que BAILEY de la *Connecticut agricultural experiment Station*, avait précédemment caractérisé, dans les levures de ce type, l'addition de fécule de manioc (3).

La question restait entière ; il était intéressant, dans ces conditions, de reprendre systématiquement les essais concernant la richesse en vitamines B de levures d'origine connue, en ayant soin d'écarter toute trace de fraude ou de dilution.

* * *

Ayant fait porter nos premières recherches sur de nombreuses levures d'activités différentes, nous avons retenu finalement pour en faire l'étude approfondie deux types extrêmes, de caractères morphologiques voisins et appartenant tous deux à l'espèce *Saccharomyces cerevisiæ*.

(1) C. KENNEDY et L. S. PALMER. *Journ. of biol. Chem.*, 1922, 44, p. 217.

(2) P. A. LEVENE et M. MUHLFELD. *Journ. of biol. Chem.*, 1923, 57, p. 341.

(3) E. M. BAILEY. *Connecticut Agric. Exp. St., Bulletin* 240, 1922, p. 12.

La *levure B* était une levure *basse*, cultivée sur *moût de bière*, exclusivement préparé avec du houblon et du malt (orge germée, séchée et privée de sa radicule).

La *levure D* était une levure *haute*, utilisée en *distillerie* et cultivée sur mélasse de betterave diluée.

Mises fraîches à l'étuve réglée à 100-105°, et maintenues pendant huit heures, ces levures, dont nous avons chaque fois vérifié la pureté, ont fourni en moyenne :

	Levure B.	Levure D.
Humidité	71,21	71,12
Produit sec	28,79	28,88

Pour nos besoins, nous les avons au préalable finement vermicellées, puis lentement desséchées à l'air, à 50°, pendant vingt-quatre heures environ. Les *levures sèches* ainsi obtenues nous ont donné les compositions chimiques suivantes :

	Levure B.	Levure D.
Humidité	4,59	4,60
Matières minérales (cendres).....	8,20	6,55
Matières grasses (lipides)	0,71	0,45
Matières protéiques (protides)	47,75	43,75
Matières hydrocarbonées (glucides saccharifiables exprimés en mal- tose).....	21,14	16,48

D'autre part, nous avons préparé, à partir des mêmes levures *fraîches*, des *extraits alcooliques*, en suivant rigoureusement la technique de FUNK, HARROW et PATON : opération des plus simples, qui consiste à traiter la levure par épuisements successifs, à froid, avec de l'alcool à 70° (1). Toutefois, pour tenir compte de l'humidité initiale de la levure, l'alcool utilisé pour le premier épuisement était de l'alcool à 95° que l'on ajoutait en proportion rigoureusement calculée pour ramener cet alcool à 70°. Ce titre fut choisi, du reste, en toute connaissance de cause, de préférence aux alcools à 80° et à 60°, qui donnent des extraits moins actifs. Il fallait compter employer, en alcool, environ trois fois et demi le poids de la levure pour que l'épuisement fût satisfaisant.

La concentration se faisait à la température de 50°, au bain-marie tiède, par distillation sous pression réduite, celle-ci se trouvant très simplement réalisée au moyen d'une trompe à eau branchée sur un flacon permettant d'éviter tout reflux accidentel. L'extrait ainsi obtenu, étendu en couches minces, fut maintenu à l'étuve à 50°, jusqu'à ce qu'il devint de consistance demi-dure. En partant de levures fraîches, les rendements étaient environ de 4,5 pour 100, pour la levure B, et de 6 pour 100 pour la levure D. Sensiblement, 0 gr. 15 d'extrait B correspondait

(1) C. FUNK, B. HARROW et J. B. PATON. *Journ. of biol. Chem.*, 1923, 57, p. 153.

à 1 gr. de levure de bière sèche et 0 gr. 20 d'extrait D, à 1 gr. de levure de distillerie sèche.

Comparativement, nous avons également utilisé des *extraits stérilisés en milieu alcalin* que nous préparions de la façon suivante. Les extraits B et D furent respectivement dissous dans dix fois leur volume d'une solution aqueuse de bicarbonate de soude à 2,5 pour 100 et maintenus une heure à l'autoclave à 130°. Après concentration au bain-marie, sous pression réduite, à quatre fois leur poids initial, ces extraits furent repris par le double de leur poids d'alcool fort, de telle manière que le titre alcoolique fût ainsi ramené aux environs de 70°. Les solutions alcooliques obtenues, ayant été filtrées pour en éliminer le carbonate alcalin, furent ensuite concentrées comme précédemment. La perte subie au cours de ces opérations fut, chaque fois, de 20 pour 100 environ, par rapport à l'extrait dont on était parti. Nous avons désigné ces extraits autoclavés sous les lettres SB et SD.

En outre, nous avons également essayé un *extrait de levure en poudre*, très hygroscopique, sorte d'*extrait-standard* vendu sous le nom d'une grande firme américaine et adopté par un grand nombre de savants comme source de vitamines B. D'après la littérature qui l'accompagne, cet extrait répond à la *fraction II* d'OSBORNE et WAKEMAN.

D'après la méthode décrite par ces auteurs (1), on traite, pour l'obtenir, de la *levure de brasserie* (préalablement lavée plusieurs fois à l'eau glacée et centrifugée) par deux à quatre fois son poids d'eau distillée acétifiée à 0,01 pour 100, puis portée à l'ébullition pendant deux à quatre minutes. La levure, après centrifugation, est épuisée à nouveau par de l'eau acétique et les solutions ainsi obtenues sont réunies, concentrées, puis additionnées d'alcool à 93°. Le précipité qui se forme après addition de 3 litres d'alcool à 2 litres de concentré est à peu près inactif. Le filtrat, évaporé à 300 centimètres cubes et additionné de nouvel alcool à 93° — de façon à donner (en poids) une solution à 79 pour 100 d'alcool — fournit un précipité très actif (*fraction II*) qui, d'après les auteurs, contiendrait la presque totalité des vitamines B. En effet, essayé sur des Rats recevant un régime purifié, privé de ces vitamines, il se montre actif à des doses journalières extrêmement faibles, de 34 mgr. par exemple, et correspond ainsi rigoureusement aux 0 gr. 20 de levure initiale supposée sèche. En partant d'une levure à 81,7 pour 100 d'humidité (en moyenne), il fut obtenu 3,11 pour 100 d'extrait total, dont 1,22 pour 100 de fraction II, correspondant à 6,2 d'extrait pour 100 de levure sèche.

La firme américaine, interrogée par nous, accusant un

(1) T. B. OSBORNE et A. J. WAKEMAN. *Journ. of biol. Chem.*, 1919, 40, p. 383.

rendement de 2,50 environ pour 100 de levure fraîche, nous pensons qu'en fait le produit essayé ne correspondait pas à la fraction II, mais plus exactement à la presque totalité de l'extrait acétique. Les renseignements obtenus, indépendamment de nous, par GOLDBERGER et ses collaborateurs (1), confirment entièrement notre façon de voir, et nous laissent même supposer que la levure utilisée, le plus souvent, n'est pas une véritable levure cultivée sur moût de malt pur.

* * *

Tandis que des animaux témoins recevaient uniquement le régime type à base de dextrine, sans vitamines B (*Lot I*), nous avons effectué systématiquement les essais comparatifs ci-après, sur soixante-deux Pigeons, répartis en neuf autres lots, de la manière suivante :

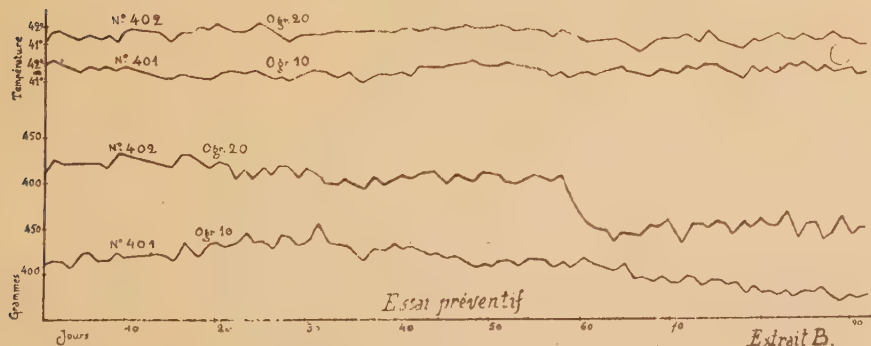
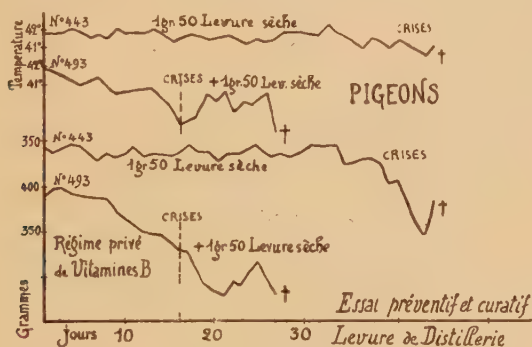
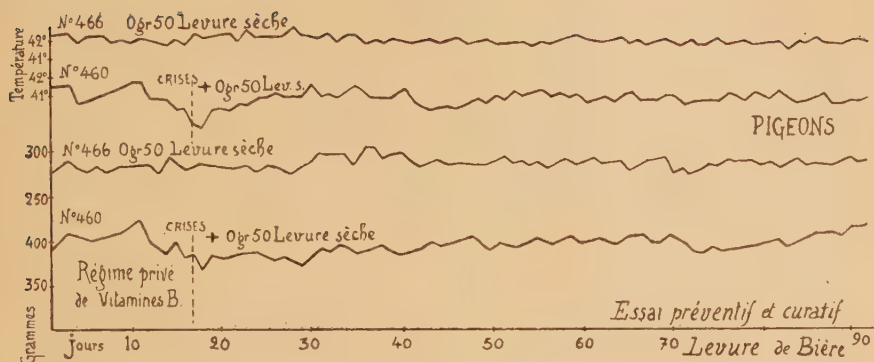
- Lot I. — Essai témoin avec régime sans vitamines B, à base de *dextrine*.
- II. — Essai préventif avec addition de *levure sèche de bière B* (0 gr. 50, 0 gr. 75, 1 gramme et 1 gr. 20 par jour).
- III. — Essai curatif avec addition de *levure sèche de bière B* (0 gr. 50, 1 gramme et 1 gr. 20 par jour).
- IV. — Essai préventif avec addition d'*extrait B* (0 gr. 10, 0 gr. 15 et 0 gr. 20 par jour).
- V. — Essai curatif avec addition d'*extrait B* (0 gr. 10, 0 gr. 15, 0 gr. 20, 0 gr. 25 et 0 gr. 30 par jour).
- VI. — Essai préventif avec addition d'*extrait D* (0 gr. 10, 0 gr. 20 et 0 gr. 30 par jour).
- VII. — Essai curatif avec addition d'*extrait D* (0 gr. 10, 0 gr. 15, 0 gr. 20, 0 gr. 30, 0 gr. 40 et 0 gr. 50 par jour).
- VIII. — Essai préventif avec addition d'*extraits SB et SD stérilisés en milieu alcalin* (0 gr. 10, 0 gr. 20 et 0 gr. 40 par jour).
- IX. — Essai préventif avec addition d'*extrait américain standard* (0 gr. 05, 0 gr. 10, 0 gr. 20, 0 gr. 30 et 0 gr. 40 par jour).
- X. — Essai curatif avec addition d'*extrait américain Standard* (0 gr. 05, 0 gr. 10, 0 gr. 20, 0 gr. 30 et 0 gr. 40 par jour).

Le poids et la température des sujets en expérience ont été déterminés quotidiennement.

RÉSULTATS OBTENUS. — Nous ne reviendrons pas sur les symptômes typiques de la polynévrite aiguë observés chez les animaux témoins privés de vitamines B (voir chapitre précédent). Qu'il nous suffise de rappeler que la mort des Pigeons survient, dans ce cas, après une chute progressive du poids et de la température de l'animal et au milieu de crises nerveuses graves, entre le dix-septième et le vingt-septième jour du régime.

La *levure de bière sèche B*, à dose de 0 gr. 50 par jour, empêche l'éclosion des crises polynévritiques et suffit même à guérir celles que le régime à base de dextrine (sans aucune addition) a pu provoquer (voir *graphique VIII*). La guérison se maintient alors pendant toute la durée de l'expérience (au-delà de cinq et six mois). Des doses plus fortes, sans produire d'amélioration sensible, donnent des résultats également satisfaisants.

(1) J. GOLDBERGER, G. A. WHEELER, R. D. ILLIE et I. M. ROGERS. *Publ. Health Rep.*, 1926, 41, p. 297.



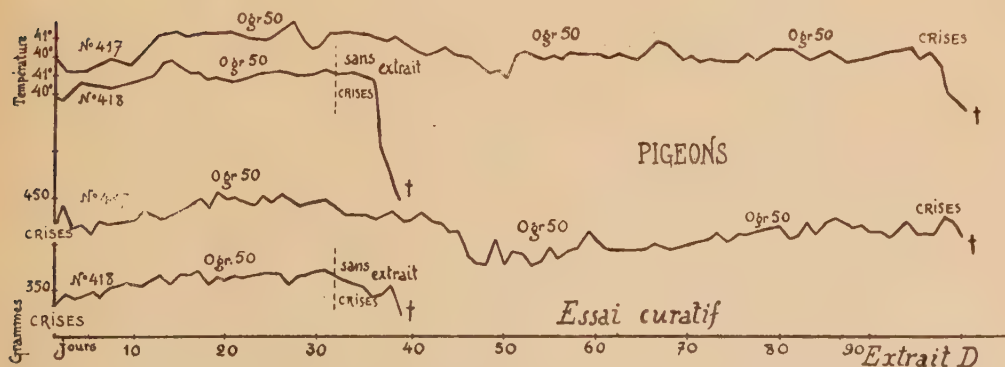
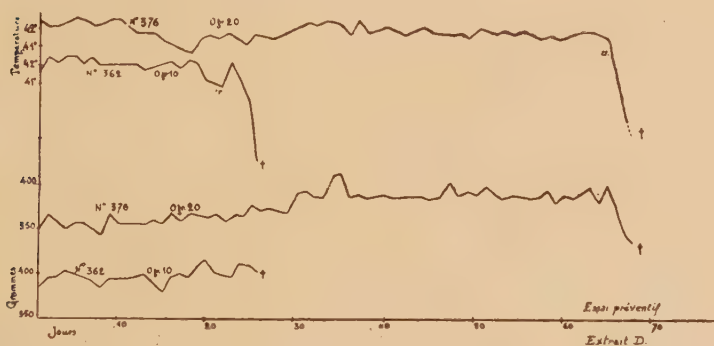
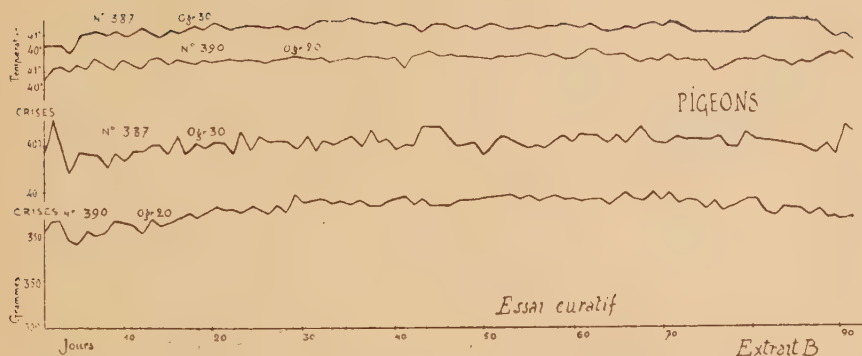
La *levure de distillerie sèche D*, donnée à titre préventif à la dose de 0 gr. 75 par jour, retarde fort peu l'apparition des accidents polynévritiques ; des doses de 1 gr. et de 1 gr. 50 sont à peine plus efficaces. Elles ne prolongent guère l'existence des sujets (par rapport aux animaux témoins) que de vingt à vingt-cinq jours ; mais leur assurent incontestablement *un meilleur entretien*. Dans le dernier cas, en particulier (voir *graphique IX*), la chute de poids ne s'observe qu'aux derniers jours de la vie et les crises nerveuses qui causent la mort du Pigeon surviennent *brusquement* à la fin d'une période de *parfait équilibre thermique* (1). Au point de vue curatif, les mêmes doses sont sensiblement sans effet, puisque, malgré leur adjonction, les Pigeons succombent dans les délais normaux.



Fig. 2. — Pigeon adulte soumis à un régime privé de vitamines B et maintenu en bon état de santé avec une dose journalière de 10 centigrammes d'*extrait B de levure de bière*, ajouté comme complément.

L'*extrait B de levure de bière*, ajouté à titre préventif, suffit à la dose de 0 gr. 10 pour maintenir les Pigeons dans un état normal, au-delà de quatre mois, sans accidents d'aucune sorte (voir *fig. 2* et *graphique X*). Utilisé à titre curatif, l'*extrait B*, à cette même dose de 0 gr. 10, est incapable de guérir les crises de polynévrite expérimentalement provoquées ; à des doses de 0 gr. 17 à 0 gr. 20 (voir *graphique XI*), il permet aux Pigeons de reprendre du poids et de se comporter ensuite normalement (expériences poursuivies cinq à six mois) sans crainte de rechutes. Une dose intermédiaire de 0 gr. 15 a permis d'observer une survie,

(1) Mme I. RANDOIN et R. LECOQ. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1927, [8], 5, p. 193.



déjà très appréciable, de soixante-dix-sept jours. Nous avons cependant observé, dans ce cas, une moindre résistance du sujet, dont la face a présenté une tuméfaction anormale, sans qu'il fût possible de mettre en évidence une cause microbienne. Des doses plus fortes, employées à titre préventif ou curatif, donnent des résultats tout à fait satisfaisants.

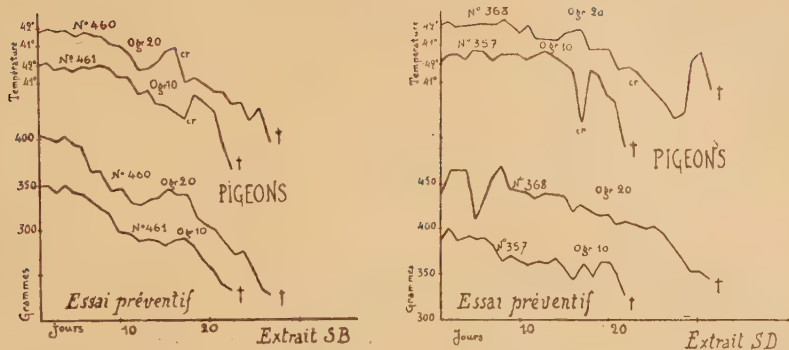
Le régime préventif, additionné d'*extrait D de levure de distillerie*, permet aux Pigeons de *maintenir leur poids et leur équilibre thermique*, d'autant plus longtemps que la dose ajoutée est plus forte, la mort survenant *brusquement* en crises polynévritiques (1). La survie atteint de vingt-cinq à quarante jours pour une dose journalière de 0 gr. 10 d'extrait ; de soixante-cinq à soixante-dix jours pour une dose de 0 gr. 20 (voir *graphique XII*) ; avec des doses plus fortes, les survies obtenues sont plus longues en général, mais assez irrégulières. Employé à titre curatif et donné dès les premières crises, à des doses supérieures à 0 gr. 10, l'extrait D retarde l'issue fatale et, si l'animal est assez robuste, lui permet de reprendre du poids. Dans ces expériences, la mort survient brusquement ainsi que dans les essais préventifs : elle fut notée au bout de vingt-quatre à trente jours pour des doses de 0 gr. 15 à 0 gr. 20 d'extrait ; au bout de quarante jours pour 0 gr. 40 d'extrait et au bout de cent jours pour 0 gr. 50 d'extrait. Il semble qu'ici l'*amélioration n'est pas due à un apport de facteur antinévritique vrai*, car, dès que l'extrait D est supprimé, du régime, l'animal meurt de crises nerveuses en quelques jours (voir *graphique XIII*). Notons que, dans de nombreux cas, il fut observé des tuméfactions de la face et la formation d'excroissances, tant sur les paupières que sur la partie charnue du bec, chez les Pigeons recevant de l'extrait D.

Les *extraits SB et SD stérilisés en milieu alcalin*, ajoutés aux doses de 0 gr. 10, 0 gr. 20 et 0 gr. 40 à la ration de base, n'ont pas modifié sensiblement l'évolution de la polynévrite. Le poids baisse notablement et les accidents nerveux se développent de façon constante entre le quinzième et vingt-cinquième jour, la mort survenant au plus tard le trente-et-unième jour (voir *graphique XIV*).

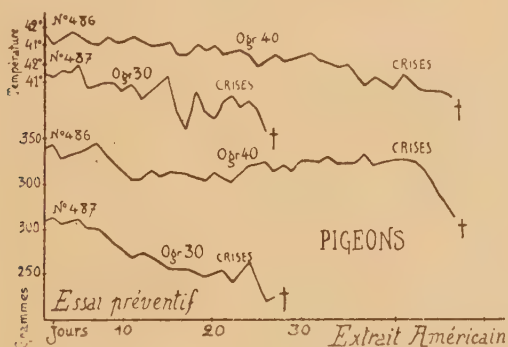
A titre préventif, les petites doses (0 gr. 05 et 0 gr. 10 par jour) d'*extrait standard américain* (donné cependant comme très actif) ne modifient que fort peu l'évolution de la polynévrite ; des doses plus fortes (0 gr. 30 et 0 gr. 40) assurent cependant *un meilleur entretien* des sujets (voir *graphique XV*). L'action curative, nulle pour les petites doses, paraît être, pour les plus fortes doses, en rapport avec la présence d'un facteur d'entretien ou le fonctionnement qui n'est pas spécifiquement antinévritique (2).

(1) Mme I. RANDOIN et R. LECOQ. *Bull. Soc. Thérap.*, 1926 [7], 31, p. 197.

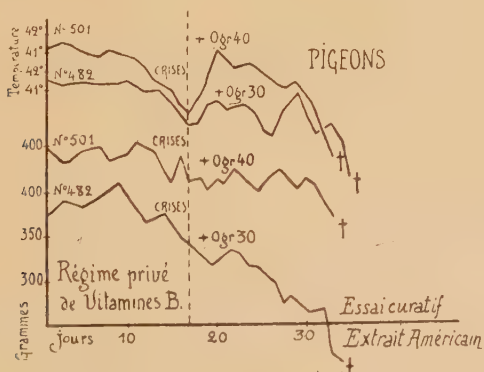
(2) Mme I. RANDOIN et R. LECOQ. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1927 [8], 5, p. 147.



Graphiques XIV et XV. — Les extraits SB et SD stérilisés en milieu alcalin ne modifient pas sensiblement les courbes de poids et de température des Pigeons soumis au régime privé de vitamines B.



Graphique XVI. — L'extrait de levure standard américain est, pour le Pigeon, une mauvaise source de vitamines B. La survie prolongée obtenue avec 0 gr. 40 de cet extrait indique cependant la présence d'une certaine quantité de facteur d'entretien.



Graphique XVII. — Même aux doses de 0 gr. 30 et 0 gr. 40 par jour, l'extrait standard américain n'a qu'une faible action antinévritique.

L'évidence de ce facteur nous est, du reste, apparue très clairement déjà au cours des essais effectués avec la levure de distillerie et son extrait.

CONCLUSIONS

I. — Toutes les levures sont loin d'avoir la même valeur biologique en tant que sources de vitamines hydrosolubles B. Logiquement, il en est de même des extraits alcooliques préparés, dans des conditions identiques, en partant de ces levures.

II. — La levure de bière cultivée sur malt houblonné, donnée à des Pigeons à titre préventif ou curatif, jouit d'une activité bien supérieure à la levure de distillerie cultivée sur mélasse de betterave.

III. — La levure de distillerie et son extrait (*extrait D*) se comportent comme s'ils étaient capables de permettre l'entretien pondéral et l'équilibre thermique du Pigeon, mais incapable d'empêcher l'éclosion des crises de polynévrite. Ils les retardent cependant au moyen, semble-t-il, d'un meilleur état physiologique maintenu jusqu'aux derniers jours de la vie.

IV. — La levure de bière et son extrait (*extrait B*) assurent l'entretien du Pigeon et agissent en même temps comme préventifs et comme curatifs de la polynévrite.

V. — Dans ces essais, l'on se trouverait en présence de *deux vitamines hydrosolubles B* : l'une (apportée par les levures de bière et de distillerie, les extraits B et D et l'extrait standard) assurant l'entretien de l'organisme (que nous désignerons dorénavant, pour plus de commodité, sous le nom de *vitamine d'utilisation nutritive*), l'autre (apportée en même temps que la précédente par la levure de bière et l'extrait B) étant plus spécialement un *facteur d'équilibre nerveux*, essentiellement curatif de la polynévrite.

VI. — Ces recherches montrent, en outre, l'utilité du contrôle physiologique et le rôle primordial de la méthode biologique dans l'analyse des levures ou des produits dérivés des levures.

CHAPITRE III

Influence de la nature des glucides alimentaires sur la production d'états polynévritiques variés en l'absence et en présence de levures ou d'extraits de levure.

Partant de régimes artificiels définis, C. FUNK, en 1914, constata qu'en faisant dominer tantôt l'un et tantôt l'autre des constituants, il obtenait des résultats différents en ce qui concerne les dates d'apparition des crises polynévritiques. Les accidents se produisaient, chez le Pigeon, avec le maximum de rapidité (24-28 jours) *lorsque les glucides entraient dans la ration en forte proportion*, alors qu'ils éclataient beaucoup plus tard (vers le quarantième jour en moyenne) quand les lipides, au contraire, se trouvaient en excès (1). Un peu plus tard, COLLAZO établit également que, si l'on fait absorber à des Pigeons carencés en vitamines B, une quantité déterminée de glucides variés, les troubles nerveux apparaissent plus ou moins rapidement, *suivant la nature des glucides absorbés* (2).

En 1923 et 1924 enfin, Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET ont prouvé (au moyen de régimes artificiels privés de vitamines B, mais complets par ailleurs) : 1^o que la date d'apparition des crises de polynévrite précédant la mort des animaux en expérience est d'autant plus précoce que la proportion des glucides digérés et absorbés est plus grande (3) ; 2^o que, plus la ration renferme de glucides susceptibles d'être digérés et absorbés, plus elle doit contenir de vitamines B pour être satisfaisante (4) ; 3^o qu'en fournissant l'énergie exclusivement sous forme de lipides et de protides, on peut entretenir pendant un temps relativement long un animal (Pigeon ou Rat) entièrement privé de vitamines B (5).

(1) C. FUNK. *Zeit. für physiol. Chem.*, 1914, 89, p. 378.

(2) J. A. COLLAZO. *Bioch. Zeit.*, 1923, 138, p. 278.

(3) Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET. *C. R. Ac. Sc.*, 1923, 177, p. 903.

(4) Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, 178, p. 963.

(5) Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET, *C. R. Ac. Sc.*, 1924, 179, p. 701 et p. 1219.

Ces auteurs ont, en outre, émis l'hypothèse que, dans l'avitaminose B, la désintégration des glucides se produit anormalement en donnant naissance à des produits intermédiaires dont l'accumulation déclanche, à un moment donné, les accidents nerveux caractéristiques (1).

Les observations précédentes, confirmées par de nombreux auteurs et par des procédés différents; établissent incontestablement que le métabolisme des glucides est grandement perturbé chez un organisme privé de vitamines B. Cependant, le rôle de la vitamine antinévritique de FUNK (*sensu stricto*) (2) paraît en l'occurrence assez réduit. SUGIURA, en effet, a fort bien montré que le facteur antinévritique extrait de la levure, donné en injections hypodermiques, supprime les crises nerveuses, mais que la mort n'en survient pas moins au bout d'un temps assez rapproché (3). Tout autre paraît être, au contraire, l'influence du facteur d'utilisation nutritive qui prévient à la fois, comme nous l'avons vu, la chute de poids et de température des sujets en expérience. Le caractère particulier de ce facteur d'entretien (*growth-promoting substance* des anglo-américains) que nous avons mis en évidence dès 1926 (4), a été confirmé, par la suite, par divers auteurs, notamment par HAUGE et CARRICK (partant de la levure) (5) et par ROSEDALE (partant du son de riz) (6).

Désirant pénétrer plus avant le rapport unissant les levures d'origines diverses et les glucides de natures différentes, nous avons pensé qu'il était intéressant de procéder à toute une série de recherches portant : 1° sur l'évolution de l'avitaminose B en présence de onze glucides différents (7); 2° sur la production d'états polynévritiques aigus, récidivants ou chroniques, se produisant en présence de levures ou d'extraits de levure sous l'influence de certains glucides (8). Ce sont ces travaux que nous exposerons, aussi brièvement que possible, au cours de ce chapitre.

* * *

Nous avons constitué, pour quarante-deux Pigeons répartis en quinze lots, quinze régimes spéciaux sans vitamines B, ne *différant entre eux que par la nature des glucides* et répondant

(1) Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, 7, p. 678.

(2) C. FUNK. *Journ. State Med.*, 1912, 20, p. 341.

(3) K. SUGIURA. *Journ. of biol. Chem.*, 1918, 36, p. 191.

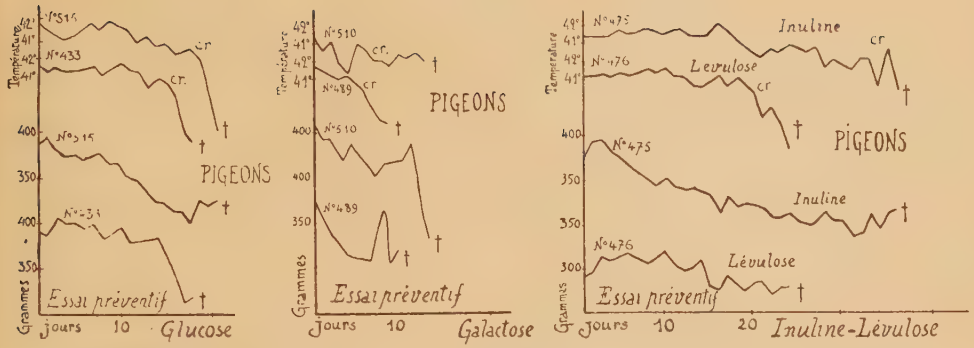
(4) Mme L. RANDOIN et R. LECOQ. *C. R. Ac. Sc.*, 1926, 182, p. 1408.

(5) S. M. HAUGE et C. W. CARRICK. *Journ. of biol. Chem.*, 1926, 69, p. 403.

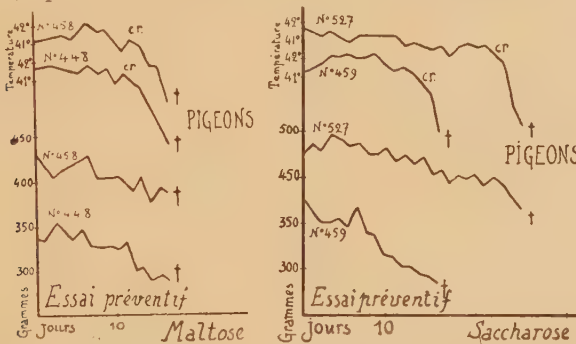
(6) J. L. ROSEDALE. *Biochem. Journ.*, 1927, 21, p. 1267.

(7) Mme L. RANDOIN et R. LECOQ. *C. R. Ac. Sc.*, 1927, 184, p. 1347.

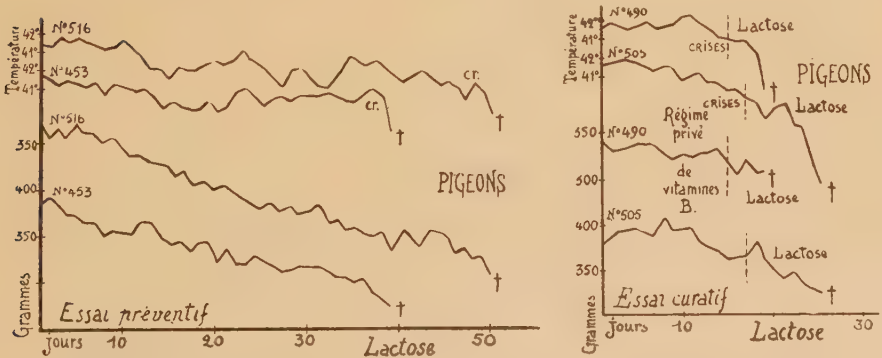
(8) Mme L. RANDOIN et R. LECOQ. *C. R. Ac. Sc.*, 1927, 185, p. 1068.



Graphiques XVIII à XX. — Les survies obtenues avec les régimes à base d'hexoses sont en rapport étroit avec la rapidité d'absorption intestinale de ces sucres, qui peut être figurée de la façon suivante : galactose + que glucose + que lévulose.



Graphiques XXI et XXII. — Le maltose et le saccharose introduits comme source exclusive de glucides dans un régime privé de vitamines B se comportent approximativement comme le mélange d'hexoses qu'ils abandonnent par hydrolyse ; en effet : maltose = glucose + glucose et saccharose = glucose + lévulose.



Graphiques XXIII et XXIV. — Les survies obtenues avec le régime à base de lactose sont beaucoup plus longues qu'avec le régime correspondant préparé avec le mélange théorique des produits de son hydrolyse (galactose + glucose) et plus longues encore que la moyenne de survies obtenues séparément avec chacun de ces constituants. Ce sucre pur est totalement dépourvu de propriétés antinévritiques.

tous, par conséquent, à la même composition centésimale : Fibrine, 8 ; Caséine, 6 ; Ovalbumine, 5 ; Graisse de beurre, 4 ; Glucide pur (ou purifié), 66 ; Mélange salin, 4 ; Agar-agar, 8 ; Papier filtre, 2. Comme d'ordinaire, chaque ration a été administrée *crue*, par gavage, à la dose quotidienne de 20 gr. Le poids et la température des Pigeons ont été déterminés chaque jour.

Les durées des survies ont été les suivantes (voir *graphiques XVIII à XX*) :

Hexoses :

- Lot I. — Régime à base de Glucose : 15-20 jours.
 — II. — Régime à base de Galactose : 9-13 jours.
 — III. — Régime à base de Lévlulose : 22-28 jours.

Hexobioses :

- Lot IV. — Régime à base de Maltose : 15-20 jours.
 — V. — Régime à base de Saccharose : 16-25 jours.
 — VI. — Régime à base de Lactose : 35-50 jours.

Polyoses complexes :

- Lot VII. — Régime à base de Glycogène : 15-20 jours.
 — VIII. — Régime à base d'Amidon (de Riz) : 25-30 jours.
 — IX. — Régime à base de Féculé (de P. de terre) : 40-60 jours.
 — X. — Régime à base de Dextrine : 17-27 jours.
 — XI. — Régime à base d'Inuline : 35-40 jours.

Mélanges :

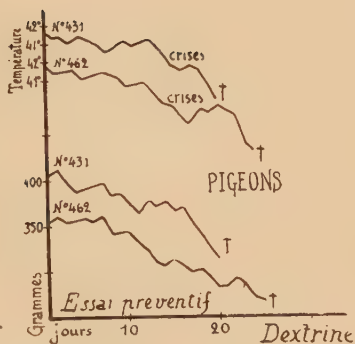
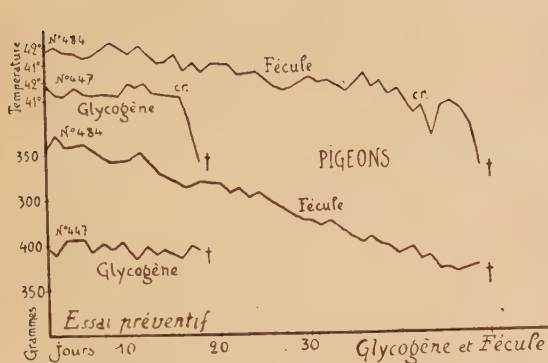
- Lot XII. — Régime Maltose-Dextrine : 16-22 jours.
 — XIII. — Régime Saccharose-Dextrine : 17-26 jours.
 — XIV. — Régime Galactose-Glucose : 25-30 jours.
 — XV. — Régime Galactose-Lévlulose : 20-25 jours.

Les onze glucides étudiés seuls ou en associations diverses se comportent, comme on voit, de manière assez différentes. Alors que l'ingestion d'un régime à base de *féculé*, de *lactose*, d'*inuline*, correspond à une certaine lenteur de l'évolution de la polynévrite ; au contraire, avec le *galactose*, le *glucose*, le *maltose* et le *glycogène*, les accidents nerveux et la mort surviennent beaucoup plus rapidement. Entre ces extrêmes se placent : le *saccharose*, la *dextrine*, l'*amidon de riz* et le *lévlulose*. Ce dernier, comparé aux autres hexoses, offre une influence retardatrice marquée.

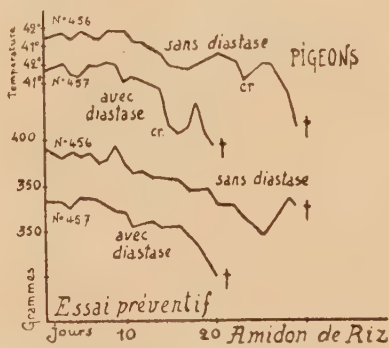
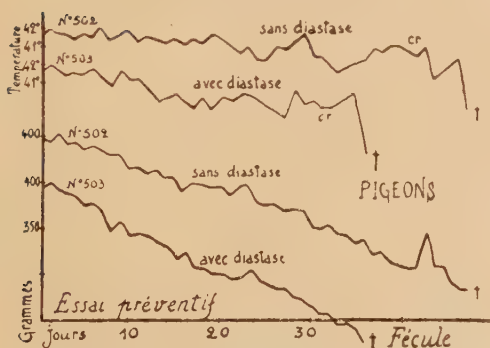
La différence constatée entre l'*amidon de riz* et la *féculé de pomme de terre* est en rapport avec la grosseur propre des grains d'amidon qui les constituent et, sans doute aussi, avec leur minéralisation. Il y a lieu de noter également que l'addition à ces régimes de 0 gr. 20 de diastase (de titre 300), source concentrée de ferments amylytiques, provoque une accélération très nette des accidents polynévritiques. L'augmentation de la digestibilité de ces glucides, par transformation partielle en maltose et dextrine, suffit à expliquer cette nouvelle manière de se comporter (1).

Les associations diverses : *maltose-dextrine*, *saccharose-dextrine*, *galactose-lévlulose* se comportent, ainsi qu'il était logique de le prévoir, avec des caractères moyens compris entre

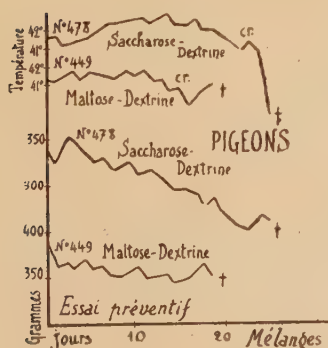
(1) Mme I. RANDOIN et R. LECOQ. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1927, [8], 6, p. 340.



Graphiques XXV et XXVI. — Les accidents polynévritiques obtenus avec des régimes à base de polyoses complexes (glycogène, dextrine, fécule de pomme de terre) sont en rapport avec leur digestibilité et la rapidité de leur absorption intestinale.



Graphiques XXVII et XXVIII. — L'addition journalière de 0 gr. 20 de diastase (de titre 300), source concentrée de ferments amylolytiques, aux régimes à base de fécule de pomme de terre et d'amidon de riz, augmente leur digestibilité et provoque de ce fait une accélération très nette des accidents polynévritiques.



Graphiques XXIX et XXX. — Les associations maltose-dextrine et saccharose-dextrine se comportent avec des caractères moyens compris entre les extrêmes des composants ; au contraire, l'association galactose-glucose permet des survies supérieures à celles que pourraient donner isolément chacun des composants.

les extrêmes des deux composants. Il en va tout autrement pour l'association *galactose-glucose*, les survies qu'elle permet étant plus longues que celles de chacun des glucides pris séparément. Ces faits ne sont cependant pas pour nous surprendre, car des observations analogues ont été faites par KNUDSON en ce qui concerne l'influence de ces sucres associés sur le développement des graines de *Pisum arvense* (1).

En rapprochant nos propres résultats des données expérimentales de CORI sur les taux d'absorption digestive et de mise en réserve des divers hexoses, chez le Rat (2), et de celles de REINHOLD et KARR sur la valeur de l'hyperglycémie alimentaire produite par différents glucides, chez le Lapin (3), nous pouvons formuler les conclusions suivantes :

Plus l'absorption intestinale d'un glucide donné est tardive ou faible (féculé, lactose (?)) ou plus son aptitude à se transformer en glycogène est grande (lévulose), moins l'avitaminose B évolue rapidement.

Inversement, plus l'absorption est rapide (galactose, glucose), plus l'aptitude à former du glycogène est faible (galactose) ou plus la tendance à produire de l'hyperglycémie est forte (galactose, maltose), plus rapidement se produit la mort en l'absence totale de vitamines B.

* * *

Nous avons, d'autre part, réparti trente Pigeons en trois lots différents, recevant trois régimes identiques aux précédents, respectivement à base de *dextrine* purifiée, de *glucose* et de *galactose* purs.

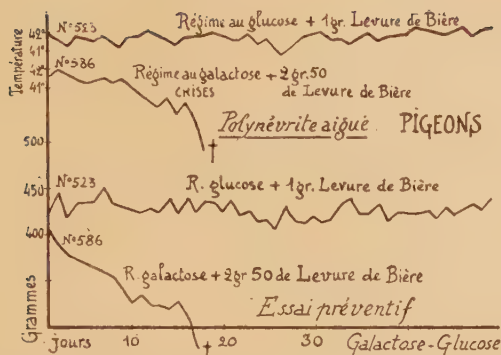
Sur chacun des trois lots, nous avons étudié comparative-ment : d'une part, les effets de l'addition à la ration de levure de bière ou de levure de distillerie, séchées à l'air à 50° (doses variant de 0 gr. 50 à 2 gr. 50 par animal et par jour), et, d'autre part, les effets de l'addition d'extrait B de levure de bière ou d'extrait D de levure de distillerie (doses variant de 0 gr. 10 à 0 gr. 40 par animal et par jour).

I. — Nous avons été grandement surpris de constater que la présence des deux vitamines B précédemment caractérisées, même en quantité largement suffisante, dans un régime artificiel complet, paraissant équilibré, n'empêche pas dans tous les cas, chez le Pigeon, l'éclosion de crises polynévritiques aiguës (dites crises caractéristiques de l'avitaminose B).

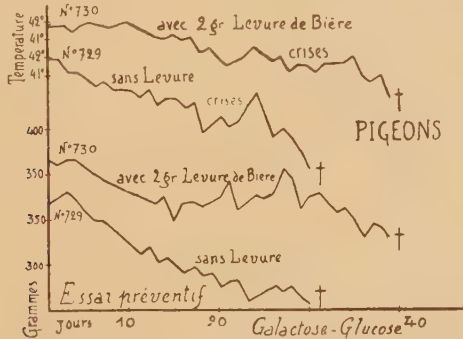
(1) L. KNUDSON. *Amer. Journ. of Botany*, 1917, 4, p. 430.

(2) C. F. CORI. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, 66, p. 691 ; et 1926, 70, p. 577.

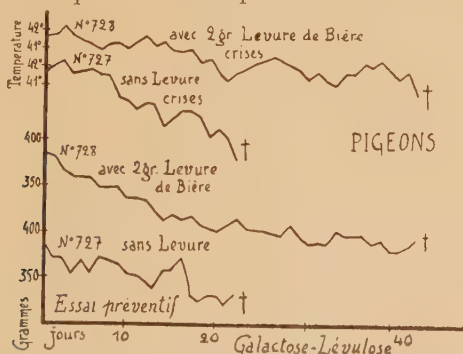
(3) J. G. REINHOLD et W. G. KARR. *Journ. of biol. Chem.*, 1927, 72, p. 345.



Graphique XXXI. — Alors que le régime au glucose, convenablement complété par la levure de bière, permet la survie indéfinie des sujets en expérience le régime au galactose, malgré l'addition de fortes doses de levure de bière n'empêche ni l'apparition des accidents typiques de la polynévrite aiguë ni la mort des Pigeons.



Graphique XXXII. — Si l'association galactose-glucose entrant dans un régime complètement privé de vitamines B favorise la survie des animaux, l'addition de 2 grammes de levure de bière par jour au régime ne prolonge que de fort peu l'existence des Pigeons et n'empêche pas l'écllosion des accidents polynévritiques caractéristiques de l'avitaminose B.



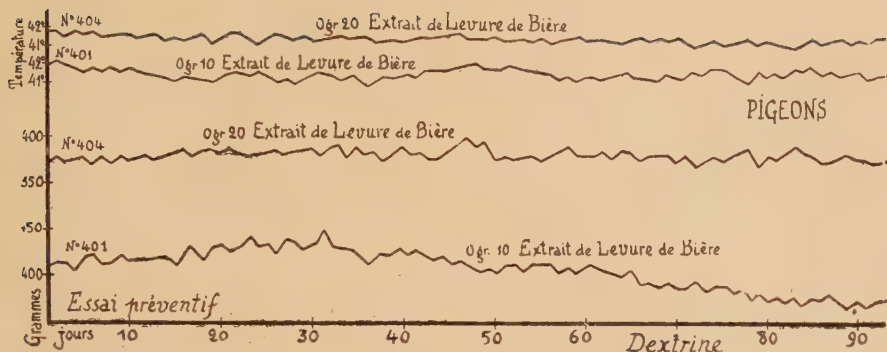
Graphique XXXIII. — L'association galactose-lévulose protège moins efficacement les Pigeons contre l'avitaminose B que l'association galactose-glucose. Avec un supplément de 2 gr. de levure de bière par jour, les accidents polynévritiques surviennent à peu près aussi rapidement dans les deux cas.

En effet, un forte dose quotidienne de levure de bière (2 gr. 50 par exemple), n'empêche, quand on choisit le *galactose* comme source unique de glucides, ni l'apparition des troubles nerveux, ni la mort de survenir au bout de 15-20 jours (voir *graphique XXI*). Cependant, dans les mêmes conditions, des hexoses, comme le glucose et le lévulose, des hexobioses, comme le saccharose et le maltose, des polyoses complexes, comme la dextrine et l'amidon, ne provoquent pas d'accidents comparables et permettent aux sujets en expérience de se maintenir en bon état de santé, sans crises polynévritiques.

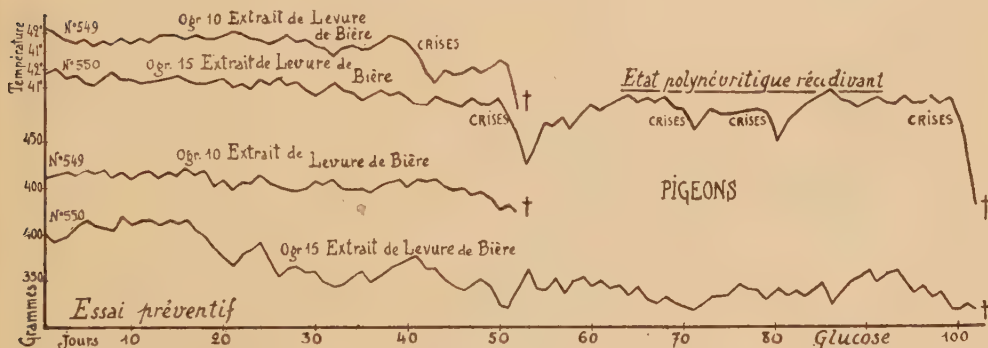
Associés au galactose (en parties égales), le lévulose et le glucose se comportent, comme on l'a déjà vu, de façon un peu différente, le glucose permettant des survies plus longues que le lévulose, contrairement aux prévisions possibles (voir *graphiques XXXII et XXXIII*). En présence de levure de bière (2 gr. par jour), par contre, les survies redeviennent très comparables (35 à 45 jours) et les accidents nerveux se produisent, plus tardivement sans doute, mais absolument de la même manière que pour le galactose pur. L'explication de ce phénomène est donnée par le caractère très spécial du galactose — qui n'existe pas à l'état d'hexose libre dans les aliments et qui est absorbé, comme le glucose, très rapidement — mais qui se différencie physiologiquement des autres glucides du fait qu'il est toujours éliminé très rapidement par les urines.

II. — Pour un même taux de glucides dans les régimes (66%), quand on emploie des sucres très vite absorbés, autres que le galactose et tels que le *glucose* par exemple, la proportion de vitamines B nécessaires au bon entretien des Pigeons atteint une *valeur maximum*. C'est ainsi que 0 gr. 10 d'extrait B de levure de bière, qui subviennent parfaitement aux besoins d'un Pigeon mis au régime à base de dextrine (voir *graphique XXXIV*), se montrent tout à fait insuffisants avec un régime à base de glucose et n'empêchent pas la mort de survenir, avec crises de polynévrite, vers le cinquantième jour. Il faut, avec le régime au glucose, pour ne pas avoir d'accidents, utiliser par exemple 0 gr. 25 de cet extrait B (voir *graphique XXXVI*).

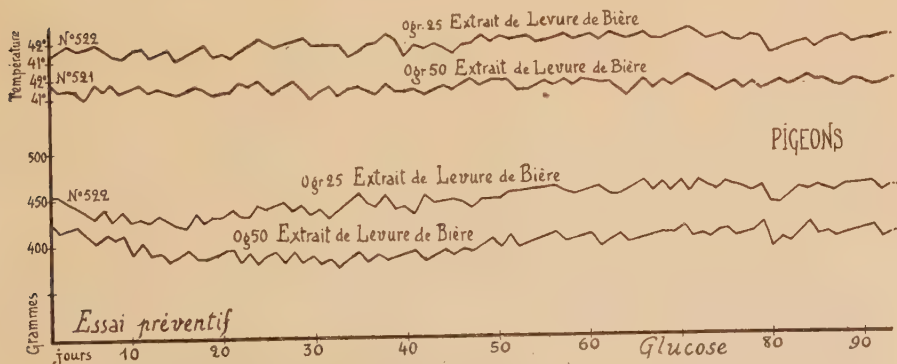
En tout cas, une *insuffisance légère des deux vitamines B* (réalisée en ajoutant 0 gr. 15 d'extrait B de levure de bière au régime à base de glucose) suffit à provoquer une longue maladie, caractérisée par des crises violentes et des guérisons apparentes, se succédant à diverses reprises (voir *graphique XXXV*). Cet état *polynévritique récidivant* se termine plus ou moins rapidement par la mort. WEILL et MOURIQUAND avait observé antérieurement des manifestations de ce genre chez des Pigeons recevant un mélange de graines entières et de graines décortiquées (1).



Graphique XXXIV. — Avec le régime à base de dextrine, une dose journalière de 0 gr. 10 d'extrait B de levure de bière se montre suffisante pour maintenir le Pigeon en bonne santé.



Graphique XXXV. — Avec le régime à base de glucose, une dose journalière de 0 gr. 10 d'extrait B de levure de bière est tout-à-fait incapable d'entretenir la santé des sujets en expérience. Une dose de 0 gr. 15, entraînant une insuffisance légère des deux vitamines B, permet de provoquer un état polynévritique récidivant, caractérisé par des rechutes et des guérisons successives.



Graphique XXXVI. — Avec le régime à base de glucose, des doses assez fortes d'extrait B de levure de bière permettent l'entretien normal (sans accidents polynévritiques) des Pigeons en expérience.

III. — Par opposition à cette insuffisance portant, *à la fois*, sur les deux vitamines B, on sait qu'il est possible de réaliser *une insuffisance de la vitamine antinévrétique seule* en utilisant comme source de levure : soit la levure de distillerie, séchée à l'air à 50° environ, soit l'extrait alcoolique D de cette levure de distillerie dont nous avons donné antérieurement la préparation. La levure de distillerie et son extrait sont, comme nous l'avons vu, riches en vitamines d'utilisation nutritive et à peu près complètement dépourvus de vitamine antinévrétique ; la mort survient dans ce cas brusquement par crises polynévritiques, après une maladie d'évolution lente sans grandes chutes de poids et de température préalables.

Avec des doses de levure de distillerie sèche allant de 1 gr. à 1 gr. 50, la durée des survies des Pigeons en expérience est en moyenne de quarante-cinq à cinquante jours. Dans un cas particulier, nous avons été assez heureux pour observer, chez un

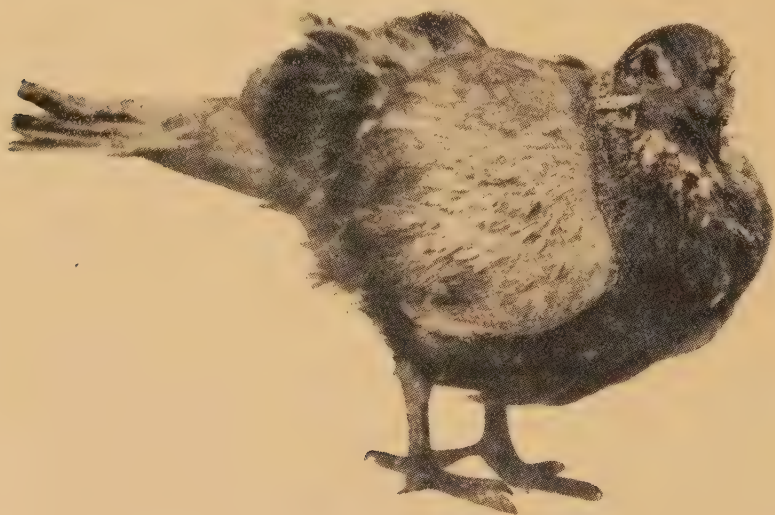


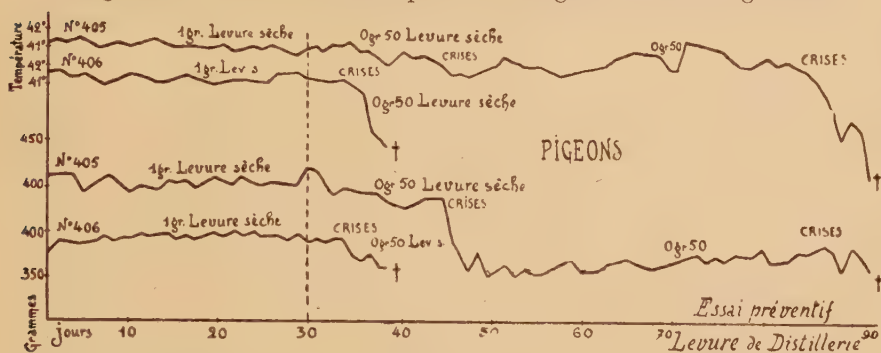
Fig. 3. — Pigeon atteint de polynévrite chronique typique.

Pigeon, plus résistant, *une maladie à évolution chronique typique*, bien caractérisée (1). Trois de nos Pigeons que nous suivions parallèlement avaient reçu 1 gr. de levure sèche de distillerie pendant un mois, et recevaient régulièrement à partir du trente-et-unième jour, une dose quotidienne de 0 gr. 50. Sur les trois individus, deux sont morts, vers le quarantième jour, de polynévrite aiguë ; le troisième a présenté des crises violentes vers le quarante-cinquième jour : brusquement, son poids a baissé d'une

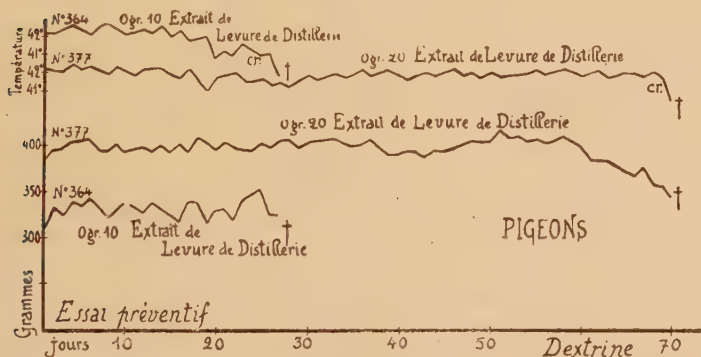
(1) Mme I. RANDOIN et R. LECOQ. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, 9, p. 513.

manière notable, puis est resté stationnaire. Finalement, il s'est installé dans sa maladie et n'est mort que le quatre-vingt-dixième jour, épuisé dans une crise de polynévrite (voir graphique XXXVII).

Avec l'extrait D de levure de distillerie, nous avons obtenu des résultats tout à fait comparables, en opérant aussi bien avec le régime à base de dextrine qu'avec le régime à base de glucose.



Graphique XXXVII. — Donnée comme unique source de vitamines B, la levure de distillerie [séchée à l'air à 50°, qui n'apporte que peu ou pas de facteur antinévritique, permet l'obtention chez les sujets les plus résistants de manifestations polynévritiques chroniques typiques.



Graphique XXXVIII. — En présence de dextrine, il faut donner quotidiennement aux Pigeons privés de vitamines B, 0 gr. 10 d'extrait D de levure de distillerie pour obtenir une survie de 25 à 30 jours et 0 gr. 20 pour une survie de 60 à 70 jours.

Mais ici, comme dans le cas de l'extrait B de levure de bière, nous avons noté une exagération du besoin d'extrait (source de vitamine d'utilisation nutritive) en présence du glucose, glucide plus rapidement absorbé et métabolisé. En effet, alors qu'en présence de dextrine, 0 gr. 10 d'extrait D suffit pour avoir une survie de vingt-cinq à trente jours, il faut, en présence de glucose, une dose double de cet extrait pour obtenir une survie de même

durée (voir *graphiques XXXVIII et XL*). Ces faits sont une nouvelle preuve du rôle joué spécialement par ce facteur (vitamine d'utilisation nutritive) dans le métabolisme des glucides.

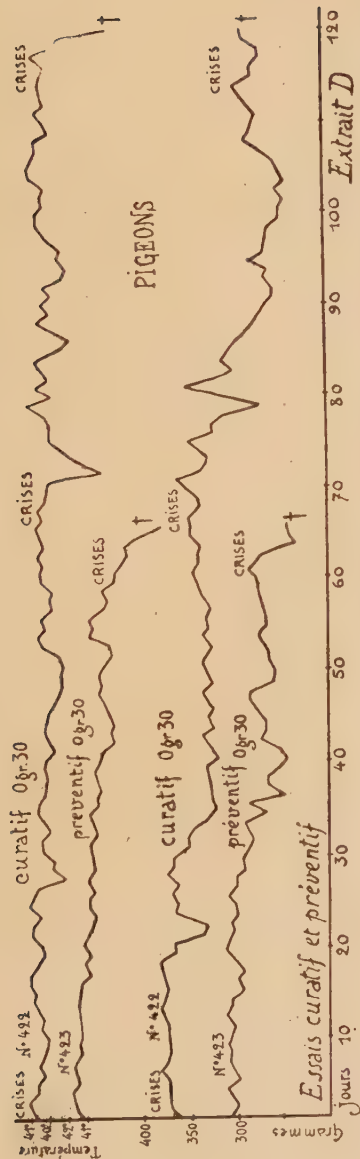
Au cours de nos essais curatifs avec le régime à la dextrine, au moyen de l'extrait D de levure de distillerie, nous avons pu obtenir également des *manifestations polynévritiques chroniques typiques* fort nettes. Le Pigeon qui les a présentées recevait, à titre curatif, 0 gr. 30 d'extrait D chaque jour. Après soixante jours, il a présenté de nouvelles crises nerveuses si accentuées qu'on attendait sa mort d'un jour à l'autre; mais son poids a simplement baissé, les accidents polynévritiques graves ont cessé de se manifester et l'animal, doué d'une résistance particulière, s'est, en quelque sorte, « raccroché à la vie » et n'est mort qu'au bout de quatre mois dans une dernière crise (voir *graphique XXXIX*). Ce résultat est à opposer, en particulier, à celui qui concerne des sujets recevant la même dose d'extrait à titre préventif, dont la survie ne dépassait pas soixante à quatre-vingt jours.

Nous avons également observé un beau cas de cet *état polynévritique chronique typique* chez un de nos Pigeons recevant le régime de base au glucose et une dose journalière de 0 gr. 50 d'extrait D de levure de distillerie. Au quatre-vingtième jour, l'animal a présenté des crises polynévritiques graves, puis ses symptômes nerveux se sont amendés et l'animal a vécu, sans présenter de variations de températures marquées, ni de crises violentes, l'emprothotonos (tendance à se tenir en boule) étant le caractère le plus marqué de sa maladie (voir *figure 3*). La mort est survenue au cent soixantième jour, en crises finales sans éclat, le Pigeon étant complètement épuisé, à l'extrême limite de sa résistance (voir *graphique XL*).

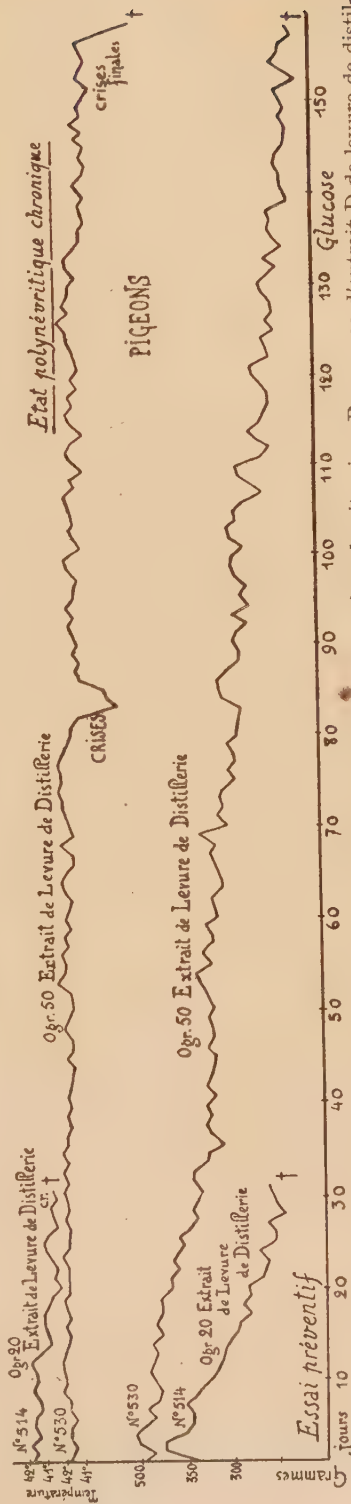
Il semble, dans ces conditions, qu'en présence de la vitamine d'utilisation nutritive et en l'absence du facteur d'équilibre nerveux (carence névritique stricte), les sujets puissent réagir différemment selon leur résistance propre, leur *terrain* individuel. Les moins aptes à se défendre présentent au bout d'un temps plus ou moins long (évolution lente) des accidents brusques dont ils meurent (polynévrite chronique *atypique*); ceux qui peuvent le mieux lutter s'installent dans leur maladie (polynévrite chronique *typique*), et ne meurent que lorsque toutes leurs forces sont épuisées.

CONCLUSIONS

I. — Au cours de la polynévrite aiguë, produite par l'absence totale de vitamines B dans le régime, on constate une perturbation grave du métabolisme des hydrates de carbone et la durée



Graphique XXXIX. — Tandis qu'une dose de 0 gr. 30 d'extrait D, donnée à titre préventif, avec le régime à base de dextrose, provoque des crises fatales de polynévrite au soixantième jour, la même quantité d'extrait D donnée à titre curatif a provoqué, chez un animal de terrain plus résistant, un *état polynévritique chronique typique*.



Graphique XL. — En présence de glucose, il faut donner quotidiennement aux Pigeons privés de vitamines B, 0 gr. 20 d'extrait D de levure de distillerie pour obtenir une survie d'une trentaine de jours. Avec 0 gr. 50 d'extrait D, nous avons observé la production d'un *état polynévritique chronique* caractéristique.

de l'évolution de la maladie est en relation étroite avec la nature et la proportion des glucides entrant dans la ration.

II. — Certains sucres de caractères physiologiques particuliers, tels que le galactose, *produisent exceptionnellement de la polynévrite aiguë* en présence de sources de vitamines B satisfaisantes ; le trouble du métabolisme provient, dans ce cas, de la nature propre du glucide qui, contrairement aux autres sucres, se trouve rapidement éliminé par les urines.

III. — Pour un même taux de glucides, quand on emploie des régimes complets à base de sucres très vite absorbés (autres que le galactose), à base de glucose par exemple, la proportion de vitamines B nécessaire pour l'entretien de la santé chez les Pigeons atteint son maximum.

IV. — Une insuffisance légère des deux vitamines B (facteur antinévritique et facteur d'utilisation nutritive) détermine, chez le Pigeon, la production d'une maladie à évolution lente, caractérisée par des guérisons et des rechutes successives, qui constitue à proprement parler *un syndrome polynévritique récidivant*.

V. — Une insuffisance de la vitamine antinévritique seule détermine chez les sujets les plus résistants, après de fortes crises, mortelles pour les autres, *un état polynévritique chronique typique*, à symptômes larvés et de longue durée.

VI. — La vitamine d'utilisation nutritive paraît intervenir (plus spécialement que le facteur antinévritique) dans le métabolisme des glucides ou hydrates de carbone.

VII. — Dans la constitution des régimes complets, il importe de se préoccuper, non seulement de la présence des principes indispensables, mais encore de la *nature* des substances énergétiques et des relations possibles entre celles-ci et une ou plusieurs vitamines.

CHAPITRE IV

Essai de séparation, au moyen de la terre à foulon, des vitamines antinévritique et d'utilisation nutritive de la levure de bière; caractérisation probable d'un troisième facteur.

La présence, dans la levure de bière et dans l'extrait alcoolique de levure de bière, de *deux vitamines B distinctes* : un facteur d'utilisation nutritive et un facteur antinévritique, paraissant un fait bien établi, nous avons cherché à séparer ces deux facteurs actifs, aussi simplement que possible, en utilisant les propriétés adsorbantes bien connues que manifeste la terre à foulon vis-à-vis des vitamines B (1).

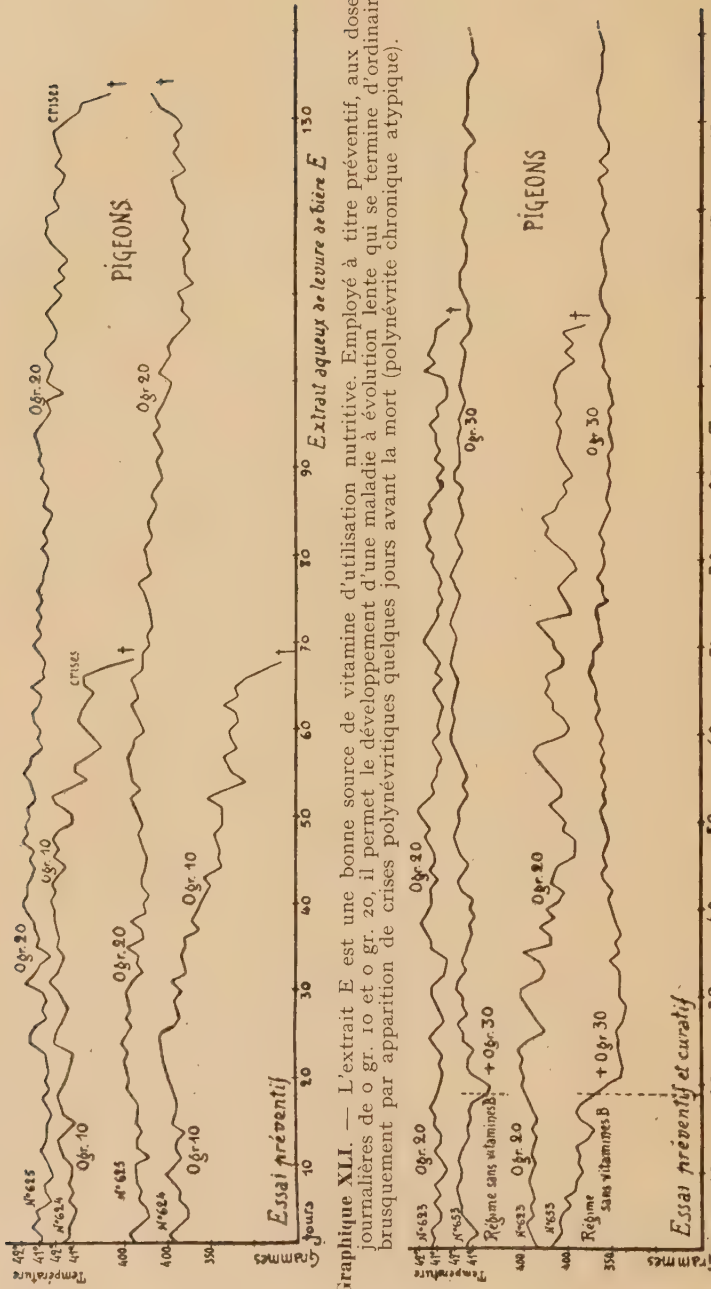
* * *

De même que, pour nos expériences précédentes, nous avons préparé, tout d'abord, un extrait alcoolique de levure de bière, en épuisant à froid, par de l'alcool à 70°, la levure fraîche, puis en distillant cet alcool sous pression réduite. L'*extrait B* ainsi obtenu est, comme il a déjà été démontré, une excellente source de vitamine d'utilisation nutritive et de vitamine antinévritique.

A. — D'une part, nous avons repris 100 gr. de cet extrait B par 1.500 centimètres cubes d'*eau distillée*, à la température de 30°. La solution, abandonnant au moment de sa filtration 23 à 25 pour 100 de la substance traitée, est alors agitée, pendant une demi-heure, d'abord avec 45 gr., puis avec 30 gr. de terre à foulon (préalablement débarrassée de ses impuretés, par épuisement à l'eau bouillante, puis séchée). Les deux fractions de terre à foulon, lavées avec un peu d'eau distillée, furent ensuite soigneusement essorées et séchées à basse température, fournissant ainsi approximativement 75 gr. de *terre activée TE*.

Le filtrat, évaporé dans le vide à basse température, nous a donné l'*extrait aqueux E*.

(1) A. SEIDELL. *Publ. Health Rep.*, 1916, 31, p. 364.



Essai préventif et curatif



B. — D'autre part, 100 gr. de l'extrait B ont été dissous dans 1.500 centimètres cubes d'alcool à 70°, mais la solution abandonna au moment de la filtration de 7 à 9 pour 100 (suivant les opérations) d'un précipité cristallin. Le filtrat fut ensuite agité, à deux reprises successives pendant une demi-heure, avec 50 gr., puis de nouveau avec 50 gr. de terre à foulon (purifiée comme précédemment). On obtint ainsi 100 gr. environ de *terre activée TA*.

Le filtrat, également évaporé dans le vide à basse température, nous a donné l'*extrait alcoolique A*.

L'essai de ces produits (1) a été effectué au moyen de trente-huit Pigeons adultes, répartis en de nombreux lots, mais recevant tous, comme régime de base, le régime type privé de vitamines B dont nous avons donné la composition dans notre premier chapitre. Ce régime, donné seul, provoque, comme on sait, les crises de polynévrite et la mort en trois semaines environ.

L'*extrait B* initial empêche l'apparition des accidents nerveux chez le Pigeon, à la dose de 0 gr. 10 par jour, et permet une survie de l'animal pratiquement indéfinie (voir *graphique XLVI*).

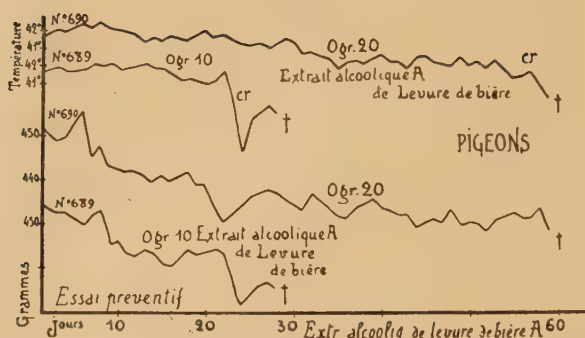
L'*extrait aqueux E* se comporte sensiblement (mais à doses moindres) comme notre extrait D de levure de distillerie, source presque exclusive de vitamine d'utilisation nutritive. Il permet des survies plus ou moins prolongées des animaux avec production d'un syndrome polynévritique chronique atypique (1), à évolution lente, avec apparition brusque de fortes crises nerveuses quelques jours avant la mort (v. *graph. XLI*). Etant moins chargé de substances extractives que l'extrait D, l'extrait E possède une activité sensiblement double (pour un même poids de levure initiale traitée).

La *terre activée TE* possède, vis-à-vis de la polynévrite du Pigeon, une action préventive presque suffisante à la dose de 0 gr. 20 et une action préventive et curative tout à fait satisfaisante à la dose de 0 gr. 30 (voir *graphique XLII*). Il est probable que la terre à foulon a fixé, dans ces conditions, non seulement la vitamine antinévritique, mais encore assez de vitamine d'utilisation nutritive pour prolonger et soutenir son action, en particulier dans le cas des doses assez fortes.

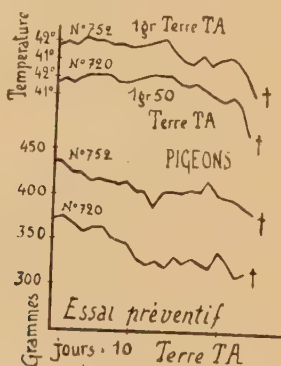
L'*extrait alcoolique A*, tout comme l'extrait E, apparaît sans action antinévritique sensible ; mais ses effets sur la chute de poids et de température de Pigeon sont moins marqués (voir *graphique XLIII*). Il est probable que la précipitation cristalline, qui a lieu au début de l'opération au moment de la reprise par

(1) Mme L. RANDOIN et R. LECOQ, *C. R. Soc. Biol.*, 1928, 99, p. 148.

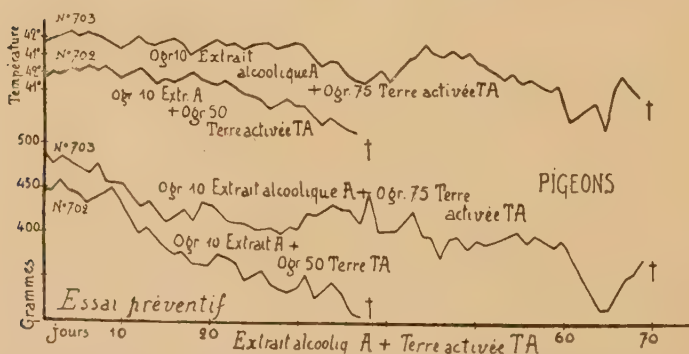
(2) En multipliant nos expériences, nous espérons pouvoir obtenir par la suite des cas de polynévrite chronique *typiques* qui ne s'observent, comme on l'a vu au chapitre précédent, que chez des sujets particulièrement résistants.



Graphique XLIII. — L'extrait A, privé (par filtration d'un dépôt cristallin) d'une partie de son activité, est une moins bonne source de vitamine d'utilisation nutritive que l'extrait E.



Graphique XLIV. — La terre activée TA qui est une bonne source de vitamine antinévritique, ne renferme pas assez de vitamine d'utilisation nutritive, même à des doses quotidiennes assez élevées, pour prolonger la vie des Pigeons soumis au régime privé de vitamines B. La mort des animaux survient, dans ce cas, à la suite de crises de suffocations.



Graphique XLV. — L'extrait TA ajouté à l'extrait A manifeste son activité par une prolongation sensible de la vie des Pigeons en expérience ; l'insuffisance de la vitamine d'utilisation nutritive se traduit par une mort prématurée.

l'alcool, entraîne une forte proportion de vitamine d'utilisation nutritive, ce qui diminue d'autant l'activité de l'extrait.

La terre activée TA ne prolonge qu'à peine la vie des Pigeons, même à des doses quotidiennes assez fortes : 1 gr. et 1 gr. 50 (voir graphique XLIV). Dans ce cas, les sujets en expérience succombent dans des crises de suffocations ou d'étouffements au lieu des crises polynévritiques violentes habituelles.

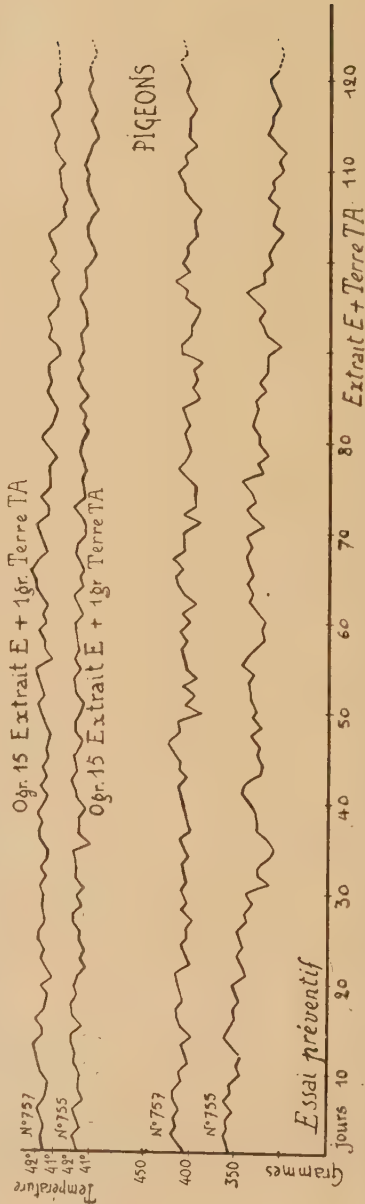
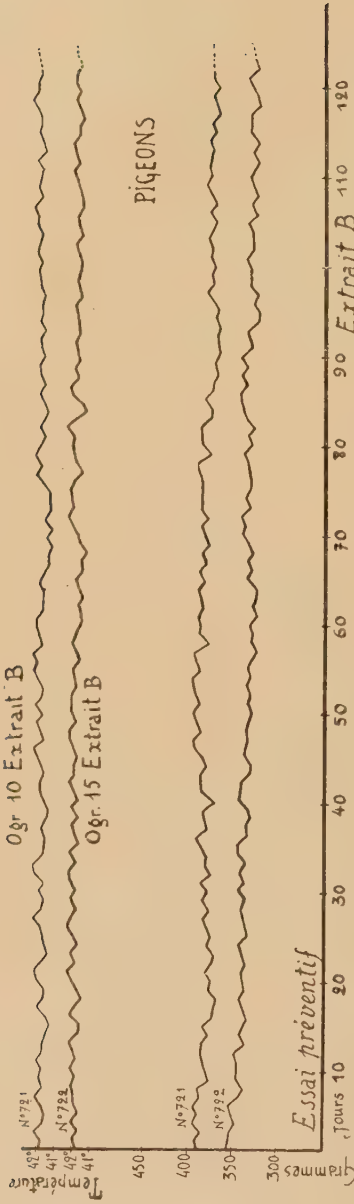
La terre activée TA, ajoutée à l'extrait alcoolique A, prolonge sensiblement la survie des animaux (voir graphique XLV) ; mais son action complémentaire est beaucoup plus nette avec l'extrait E. Dans ce cas, les Pigeons qui reçoivent assez de l'un et l'autre facteur ont une survie pratiquement indéfinie (voir graphique XLVII).

Les résultats essentiels sont, du reste, mis en évidence avec une grande netteté dans le tableau que nous reproduisons ci-après :

REGIMES	Doses préventives de terre ou d'extrait (en gr. par jour)	SYMPTOMES	Durée des survies en jours
Témoin seul.....	»	crises de polynévrite	17-27
Tém.+ Extr. initial B ...	0,10 0,15	aspect normal aspect normal	indéfinie indéfinie
Tém.+ Terre activée TE..	0,20 0,30	cr. faibles (suffocations) aspect normal	100-110 indéfinie
Tém.+ Extr. aqueux E...	0,10 0,15 0,20	polynévr. chron. (crises) polynévr. chron. (crises) polynévr. chron. (crises)	60-70 90-100 130-140
Tém.+ Terre activée TA..	0,25 0,60 1 » 1,50	crises de suffocations crises de suffocations crises de suffocations crises de suffocations	17-20 20-30 20-30 20-30
Tém.+ Extr. alcool. A ...	0,10 0,20	crises de polynévrite crises de polynévrite	17-30 40-60
Tém.+ Extr. A + Terre TA	0,10 A + 0,50 TA 0,10 A + 0,75 TA 0,15 A + 1 » TA	crises de suffocations crises de suffocations crises de suffocations	35-40 65-75 90-110
Tém.+ Extr. E + Terre TA	0,15 E + 1 » TA	aspect normal	indéfinie

Il semble qu'en milieu aqueux, la terre à foulon entraîne non seulement la presque totalité de la vitamine antinévritique, mais encore une certaine proportion de la vitamine d'utilisation nutritive. L'extrait E, résultant de l'évaporation de l'eau, est cependant une excellente source de ce dernier facteur.

En milieu alcoolique, la terre à foulon fixe presque exclusivement la vitamine antinévritique. L'extrait, résultant de l'évaporation de l'alcool, reste malheureusement, comme on l'a vu, par suite d'une précipitation cristalline, une assez faible source de vitamine d'utilisation nutritive.



* * *

Ce qui nous a frappé le plus, tout d'abord, dans les expériences précédentes, c'est le peu d'action exercée par la *terre activée TA* sur la durée des survies et l'état général des Pigeons soumis au régime de base privé de vitamines B. Si, en dehors de l'atténuation des symptômes (crises de suffocations au lieu de crises de polynévrite), nous n'avions eu, pour nous convaincre de l'efficacité de la terre TA, l'action complémentaire très nette qu'elle manifeste vis-à-vis des extraits A et E, nous aurions pu mettre en doute son activité.

De cette manière, nous avons mieux compris qu'il ne faut jamais se hâter de conclure à l'inactivité d'une substance, même quand celle-ci ne paraît modifier que fort peu l'évolution de la polynévrite. Et, pour cette raison, nous avons repris l'expérimentation de l'*extrait SB*, résultant, comme on sait, de l'autoclavage de l'extrait alcoolique B de levure de bière en présence de bicarbonate de soude (voir chapitre II). Mais des doses de plus en plus fortes de l'extrait SB, atteignant 0 gr. 50 et 1 gr. par jour, ne nous ont semblé retarder que fort peu (de dix à vingt jours peut-être) la mort des Pigeons qui succombaient au milieu de crises polynévritiques aiguës (voir *graphique XLVIII*).

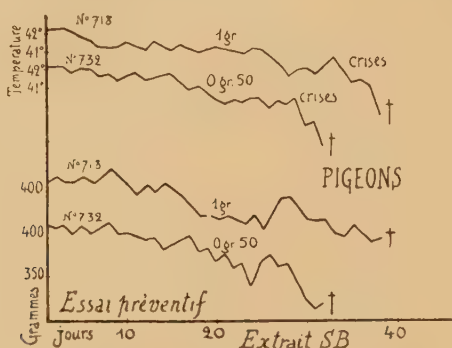
C'est alors que nous avons eu l'idée d'*associer à fortes doses la terre activée TA et l'extrait SB*. A 0 gr. 50 d'extrait SB (représentant cinq fois environ la quantité suffisante pour le Pigeon quand l'extrait n'est ni autoclavé ni traité chimiquement), nous avons ajouté, tant à titre *préventif* que *curatif*, 1 gr. et 2 gr. de terre activée TA (doses cinq et dix fois supérieures aux besoins normaux du Pigeon recevant l'extrait complet).

L'addition de 1 gr. de terre activée TA s'est montrée sensiblement sans action (aussi bien à titre préventif que curatif). Par contre, à la dose de 2 gr. par jour, des résultats très nets ont été notés. Pratiquement, la survie s'est trouvée prolongée de un mois dans l'essai curatif ; et elle a atteint trois mois environ dans l'essai préventif, en dépit d'une chute de poids lente et progressive (voir *graphique XLIX*).

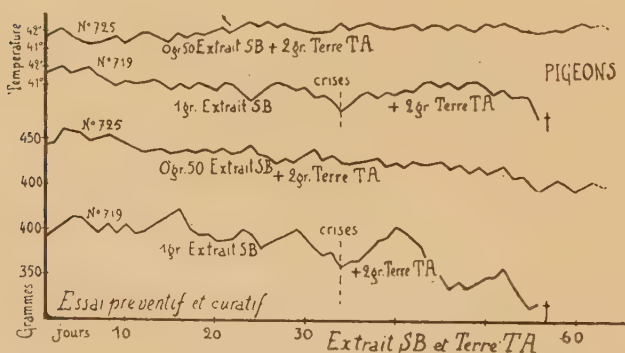
Il est vraisemblable que les fortes doses de terre activée utilisées sont introduit dans la ration, avec la vitamine antinévritique, de petites quantités de vitamine d'utilisation nutritive ; il n'en est pas moins vrai que l'activité de la fraction autoclavée se trouve ainsi nettement affirmée et que la présence d'un *facteur thermostable nécessaire au Pigeon se dégage de ces expériences comme très probable*.

Ce facteur thermostable accompagnant la vitamine d'utilisation nutritive (qui, elle, est thermolabile) dans tous les extraits qui renferment cette dernière, on peut se demander quel rôle

physiologique appartient en propre à chacun d'eux et quel est le facteur qui préside plus spécialement aux phénomènes d'oxydo-réductions cellulaires; ABDERHALDEN et WERTHEIMER (1), Mme L. RANDOIN, RENÉ FABRÉ (2) et TUROBINSKI (3) ayant



Graphique XLVIII. — L'extrait SB, même à très fortes doses, ne prolonge que de fort peu la vie des Pigeons recevant un régime privé de vitamines B et n'empêche pas, chez ces sujets, l'évolution rapide de la polynévrite aiguë



Graphique XLIX. — A dose très élevée, l'extrait SB et la terre activée TA, incapables séparément d'entretenir la vie des Pigeons, renforcent mutuellement leur activité et confèrent à leur association une action préventive et curative sensible. Il semble que l'extrait autoclavé SB renferme un facteur *thermostable* également indispensable à la vie du Pigeon.

montré les rapports étroits qui unissent ces phénomènes aux vitamines B. Le problème est si complexe que toute hypothèse serait, à l'heure actuelle, prématurée. Il semble ainsi que, plus nous pénétrons dans le domaine encore peu exploré de la connaissance des vitamines, plus nous découvrons de nouveaux horizons et de régions inconnues...

- (1) E. ABDERHALDEN et E. WERTHEIMER. *Arch. Gesam. Physiol.*, 1923, 201, p. 416.
- (2) Mme L. RANDOIN et R. FABRE. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, 9, p. 1027.
- (3) Mme L. RANDOIN et T. J. TUROBINSKI. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, 10, p. 248.

CONCLUSIONS

I. — Il semble qu'en partant d'un extrait de levure de bière fournissant, à la fois, la vitamine antinévritique et la vitamine d'utilisation nutritive, on puisse arriver très simplement à séparer ces deux facteurs au moyen de la terre à foulon.

II. — L'extrait de levure de bière, traité en milieu *aqueux* par la terre à foulon, filtré et concentré à nouveau, constitue une bonne source de vitamine d'utilisation nutritive.

III. — L'extrait de levure de bière, traité en milieu *alcoolique* par la terre à foulon, donne une terre activée qui contient presque exclusivement la vitamine antinévritique.

IV. — A côté de ces deux vitamines, dont l'activité a été établie précédemment, il semble exister dans l'extrait de levure de bière un troisième facteur *thermostable* également indispensable au Pigeon.

CHAPITRE V

Recherches comparatives sur l'élaboration des vitamines B par les levures cultivées sur extrait de malt, sur mélasse de betterave et mélasse de canne à sucre.

Au cours des chapitres précédents, nous avons montré que les levures de bière et les levures de distillerie (séchées à 50°) — ainsi que les extraits alcooliques qui en dérivent — ont, en ce qui concerne leur teneur en vitamines B, des valeurs très différentes. On peut se demander quelle en est la raison et, en particulier, si les levures trouvent toutes formées ces vitamines B dans leur milieu de culture ou si, le cas échéant, elles sont capables d'en faire la synthèse.

Pour essayer de résoudre ces questions diverses, nous avons procédé à toute une série d'expériences — cinquante-deux Pigeons étant utilisés à cet effet — dont nous exposons ci-après les résultats.

* * *

La levure B *de brasserie* qui jusque-là nous avait donné satisfaction, étant cultivée sur moût de malt houblonné, nous nous sommes proposé d'expérimenter la valeur de l'*extrait de malt* et du *houblon* en tant que sources de vitamines B. A cet effet, nous avons employé du houblon desséché et pulvérisé, et de l'extrait de malt en paillettes obtenu par saccharification du malt broyé et évaporation de l'extrait aqueux, sous pression réduite, à une température ne dépassant pas 50°. L'analyse chimique de cet extrait de malt nous a fourni la composition centésimale que nous reproduisons ci-après :

Humidité	2,01
Cendres	1,32
Matières grasses (lipides)	0,08
Matières protéiques (protides)	4,31
Maltose	74,96
Dextrine	17,18

Le houblon sec fut additionné au régime habituel privé de vitamines B et à base de dextrine blonde dans la proportion de 5 pour 100 ; pour l'extrait de malt, nous avons constitué un régime de même composition dans lequel l'extrait de malt



Fig. 4. — Pigeon guéri de crises polynévriques au moyen d'un régime contenant de l'extrait de malt en paillettes.

remplaçait la totalité de la dextrine. De cette façon, nous avons pu constituer les quatre lots ci-après (1) :

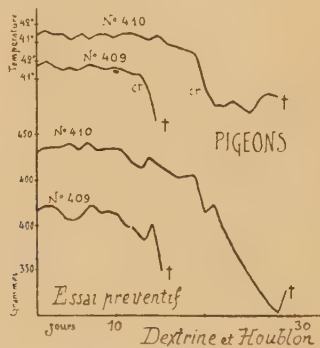
	Survie des Pigeons
Lot I. — Essai témoin avec régime à base de dextrine.....	17-27 jours
— II. — Essai avec addition de houblon sec (1 gr. par jour).	16-29 jours
— III. — Essai préventif et curatif avec régime à base d'extrait de malt.....	indéfinie
— IV. — Essai avec régime à base d'extrait de malt addi- tionné de houblon	indéfinie

On peut conclure de ces résultats que les levures cultivées sur malt houblonné, trouvent dans leur moût un milieu particulièrement riche en vitamines B, celles-ci provenant de l'extrait de malt et non du houblon. Ces faits sont, du reste, en accord

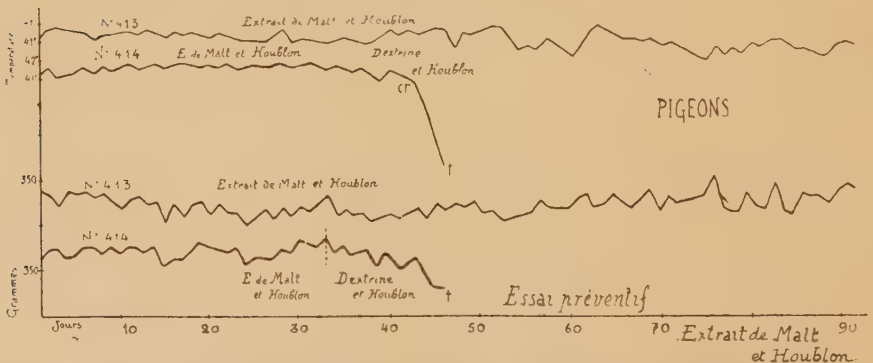
(1) Mme L. RANDOIN et R. LECOQ. *C. R. Ac. Sc.*, 1926, 182, p. 1564.



Graphique L. — L'extrait de malt, utilisé pour le régime des Pigeons, à la fois comme source de glucides et comme source de vitamines B, agit aussi bien comme préventif et comme curatif de la polynévrite. Dans ces conditions, il fournit assez, semble-t-il, de vitamine antinévritique et de vitamine d'utilisation nutritive.



Graphique LI. — Ajouté à la dose de 1 gramme par jour au régime à base de dextrine privé de vitamines B, le houblon desséché ne modifie pas sensiblement l'évolution de la polynévrite du Pigeon.



Graphique LII. — L'addition de houblon au régime à base d'extrait de malt n'altère ni n'augmente les propriétés préventives et curatives de ce dernier produit.

avec les observations de EIJKMAN et ses collaborateurs et de SOUTHGATE, qui ont montré que les levures de brasserie incorporent les vitamines B de leur milieu de culture (1), si bien que la bière en serait finalement dépourvue (2).

Il est naturel de se demander, dans ces conditions, ce qu'il adviendrait si le milieu de culture était moins riche en vitamines B que nous l'avons supposé dans le cas précédent. Pour nous en rendre compte, nous avons fait de nouveaux essais comparatifs sur le Pigeon, en ajoutant au régime à la dextrine privé de vitamines B :

Lot V. — Une levure de brasserie cultivée exclusivement sur extrait de malt houblonné (levure B) ;

— VI. — Une levure de brasserie cultivée sur extrait de malt additionné de 50 pour 100 de glucides avitaminés (**Levure BB**).

On voit, en examinant les résultats reproduits ci-après, que les deux sortes de levures ne s'opposent pas avec la même efficacité au développement de la polynévrite (ou avitaminose B), l'avantage étant nettement à ce dont le milieu de culture est le plus riche en vitamines B :

Milieu de culture des levures	Doses quotidiennes			Durée des survies en jours
	de levure en gr.	d'extrait alcoolique (dose prévent.)	de levure (dose curative)	
Extrait de malt houblonné	0,50	0,10	0,17	indéfinie
Extrait de malt et glucides	0,50	0,10	0,20	55-65
avitaminés	0,75	0,15	0,25	80-95

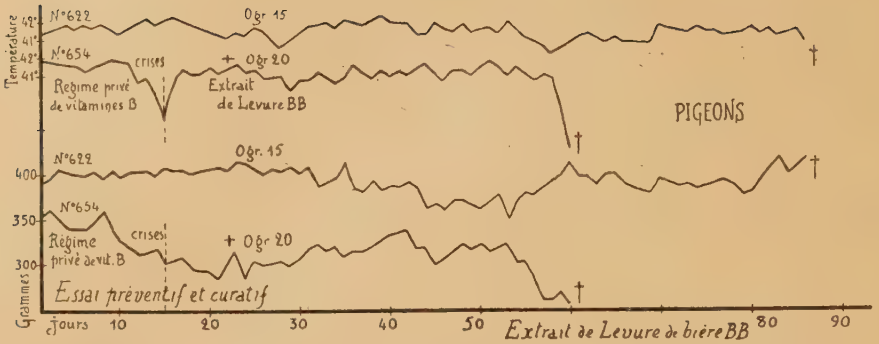
Toutes les levures de brasserie ne sont donc pas équivalentes ; il est certain, en particulier, que l'extrait de levure BB (voir *graphique LIII*) est nettement inférieur à l'extrait B que nous avons utilisé dans nos recherches antérieures (voir *graphiques X et XI*). *A première vue, ces résultats ne paraissent pas favorables à l'idée d'une synthèse des vitamines B par les levures.*

*
* *

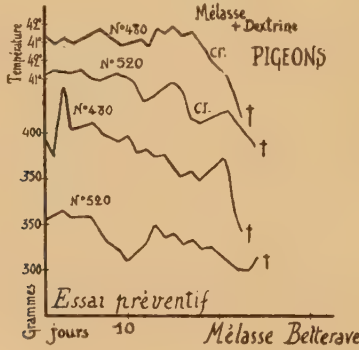
En ce qui concerne les levures *de distillerie*, nous avons recherché les vitamines B dans leur milieu de culture habituel, la *mélasse de betterave*, et, en même temps, dans la *mélasse de canne à sucre*, comparativement à l'extrait de malt, les trois substances entrant dans les régimes d'expérience au même

(1) C. EIJKMAN, C. J. C. HOOGENHUIJZE et T. J. DERKS. *Journ. of biol. Chem.*, 1923, 50, p. 311

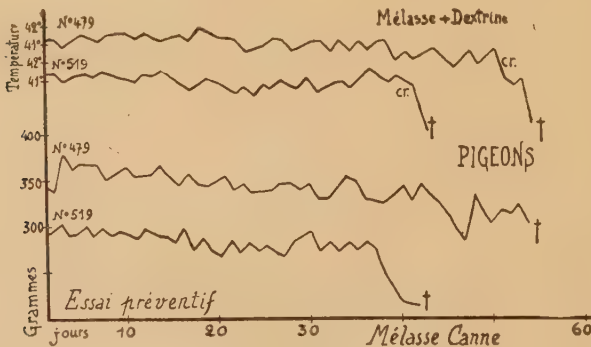
(2) W. H. SOUTHGATE. *Biochem. Journ.*, 1924, 18, p. 1248.



Graphique LIII. — Ajouté à titre préventif à la dose de 0 gr. 15, ou à titre curatif à la dose de 0 gr. 20, l'extrait de levure de brasserie BB, cultivée sur extrait de malt additionné de 50 pour 100 de glucides avitaminés, est incapable de compléter un régime privé de vitamines B et d'entretenir longtemps, chez le Pigeon, un état de santé satisfaisant.



Graphique LIV. — La mélasse de betterave, introduite dans la proportion de 34 pour 100 d'un régime privé de vitamines B, ne paraît pas modifier l'évolution de la polynévrite.



Graphique LV. — L'introduction de mélasse de canne à sucre, dans la proportion de 34 pour 100 d'un régime privé de vitamines B, prolonge sensiblement la survie des Pigeons en expérience.

taux (33-34 p. 100) (1). L'analyse chimique des mélasses nous avait donné les compositions centésimales ci-dessous indiquées :

	Mélasse de de betterave	Mélasse de canne à sucre
Humidité	29,51	23,27
Cendres	5,58	7,49
Matières grasses (lipides)	0,06	0,19
Matières protéiques (protides)	7,18	2,31
Glucides et indéterminés	57,67	66,74

Nous avons constitué, pour quatre lots de Pigeons, quatre régimes, dont le premier (à base de *Dextrine-Saccharose*) pris comme témoin, détermine les crises de polynévrite et la mort en trois semaines en moyenne.

	Lot VII Régime témoin Dextrine- Saccharose	Lot VIII Régime à base de mélasse de betterave	Lot IX Régime à base de mélasse de canne à sucre	Lot X Régime à base de d'extrait de malt
Fibrine purifiée.....	5	5	5	5
Caséine purifiée.....	6	6	6	6
Ovalbumine purifiée.....	5	5	5	5
Graisse de beurre.....	4	4	4	4
Dextrine.....	33	34	34	33
Saccharose	33	»	»	»
Mélasse supposée sèche	»	34	34	»
Extrait de malt sec	»	»	»	33
Agar-agar.....	8	8	8	8
Papier filtre.....	2	2	2	2
Mélange salin d'Osborne et Mendel.....	4	»	»	4
Mélange salin spécial.....	»	2	2	»

Dans la pratique, les mélasses furent ajoutées telles quelles, dans la proportion de 48 p. 100 pour la mélasse de betterave et de 43 p. 100 pour la mélasse de canne à sucre, et le mélange, une fois préparé, fut ensuite séché à l'étuve à 35°, puis pulvérisé.

Le *mélange salin spécial* était composé de :

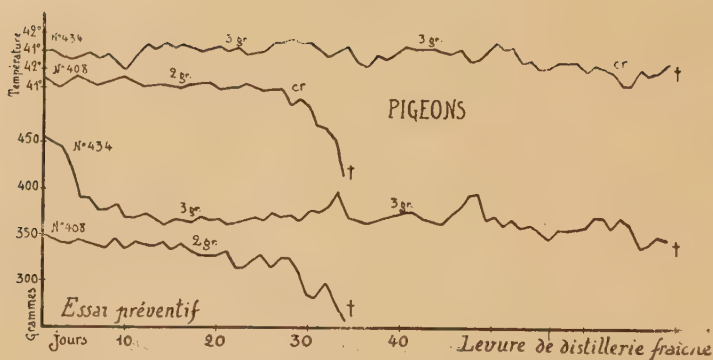
Phosphate disodique cristallisé	36 gr.
Phosphate de magnésium sec.....	24 gr.
Iodure de potassium.....	0 gr. 004
Sulfate de manganèse sec.....	0 gr. 015
Fluorure de potassium	0 gr. 050
Alun de potassium calciné.....	0 gr. 005

Les résultats obtenus peuvent être schématisés dans le tableau suivant :

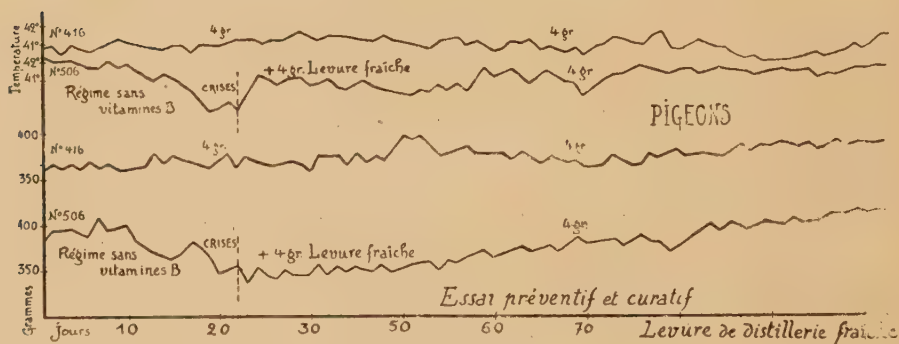
	Survie des Pigeons
Régime témoin.....	17-26 jours
Régime à base de mélasse de betterave....	18-26 jours
Régime à base de mlasse de canne.....	40-57 jours
Régime à base d'extrait de malt.....	65-76 jours

Au taux de 33 p. 100, l'*extrait de malt* ne renferme donc pas assez de vitamines B, pour assurer l'entretien du Pigeon ; nous

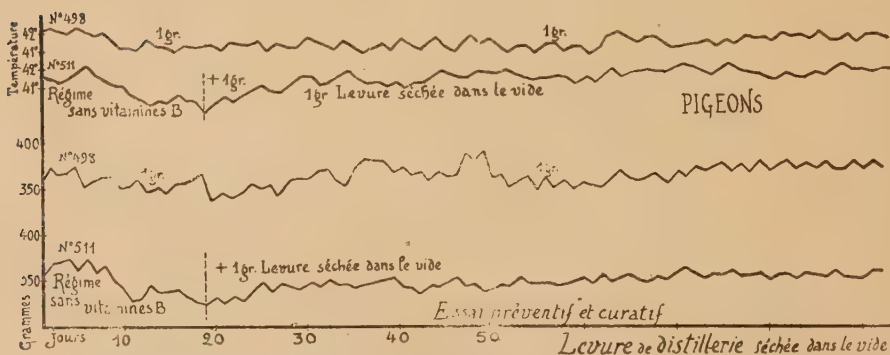
(1) Mmc L. RANDOIN et R. LECOQ. C. R. Soc. Biol., 1928, 99, p. 47.



Graphique LVI. — Quoique cultivée sur mélasse de betterave, la levure de distillerie fraîche, à la dose de 3 gr. par jour, permet déjà d'obtenir chez le Pigeon une survie appréciable.



Graphique LVII. — La levure de distillerie fraîche, à la dose de 4 gr. par jour, se montre, aussi bien à titre préventif que curatif, une source satisfaisante de vitamines B. Celles-ci ont donc pu être synthétisées par la levure, aux dépens de la mélasse de betterave qui en est à peu près dépourvue.



Graphique LVIII. — La levure de distillerie, desséchée à froid et dans le vide, donnée à la dose journalière de 1 gr., constitue pour le Pigeon une source satisfaisante de vitamines B, agissant aussi bien à titre préventif que curatif.

avons montré cependant que ce résultat peut être obtenu avec 66 p. 100 d'extrait malt, le régime étant, par ailleurs, complètement privé de vitamines B.

Comparativement, le réactif-animal nous montre que la *mélasse de canne* est encore une assez bonne source de vitamines B, puisque son activité correspond approximativement aux deux tiers de celle de l'extrait de malt.

Quant à la *mélasse de betterave*, elle ne renferme que peu ou point de vitamines B. Cependant, nous savons déjà que la levure D, à laquelle cette mélasse sert de milieu de culture contient d'importantes quantités de vitamine B d'utilisation nutritive ; nous avons, en outre, pu constater qu'à l'état frais, elle fournit également des quantités appréciables de vitamine antinévritique (1).

En effet, dès qu'elle est ajoutée au régime à base de dextrine privée de vitamines B, la *levure de distillerie fraîche* (Lot XI), à la dose quotidienne de 3 gr. permet de prolonger la vie des Pigeons au-delà de soixante jours (voir *graphique LVI*) ; et même, administrée à la dose de 4 gr., elle se comporte pratiquement comme si elle contenait les quantités de vitamine d'utilisation nutritive et de vitamine antinévritique indispensables (voir *graphique LVII*).

La dessiccation effectuée à l'air, aux environs de 50°, paraît respecter en grande partie la vitamine d'utilisation nutritive, mais elle suffit à détruire la faible quantité de vitamine antinévritique que renferme la levure de distillerie. Au contraire, la dessiccation effectuée rapidement, à basse température et dans le *vide profond* (en l'absence d'acide sulfurique) n'altère pas sensiblement le principe antinévritique. Des doses de 1 gr. et 1 gr. 50 de levure de distillerie séchée dans ces conditions (Lot XLI) se montrent parfaitement capables de prévenir et de guérir les crises de polynévrite du Pigeon, au même titre et de des quantités correspondantes de levure fraîche (voir *graphique LVIII*).

Il est probable que les levures cultivées sur mélasse de canne se montreraient supérieures encore aux précédentes, mais resteraient inférieures à celles qui sont cultivées sur extrait de malt. Il n'en est pas moins vrai qu'en conclusion de nos expériences sur les levures de distillerie *l'idée d'une synthèse des vitamines antinévritiques et d'utilisation nutritive s'impose absolument.*

* * *

Est-ce à dire que les levures peuvent se développer sur des milieux synthétiques purs, absolument privés de vitamines ? PASTEUR le croyait (2) ; LIEBIG affirmait au contraire que,

(1) MME I. RANDOIN et R. LECOQ. *Bull. Soc. Pharmacol.*, 1927, 34, p. 129.

(2) L. PASTEUR. *C. R. Ac. Sc.*, 1858, 47, p. 1011.

dans les conditions indiquées par cet auteur, on n'obtenait « ni fermentation ni levure » (1). WILDIERS, beaucoup plus tard, trancha le différend en montrant que, strictement parlant, LIEBIG avait raison, PASTEUR introduisant à son insu un élément nouveau insoupçonné, mais indispensable, qu'il désigna sous le nom de *bios* (2). Ce « bios » — qui était une vitamine avant la lettre — se trouvait en particulière abondance dans l'autolysat de levure et les ensemencements importants en apportaient une quantité non négligeable.

Certains auteurs pensèrent un moment qu'il y avait identité entre le bios et le complexe qu'on appelait alors « vitamine B » (3) ; mais DE PAULA-SOUZA et Mc COLLUM montrèrent que la propriété de stimuler la croissance de la levure subsiste dans la fraction autoclavée en présence de bicarbonate de soude (4). FUNK et DUBIN, ayant établi qu'il s'agissait d'un produit très différent des substances considérées jusque-là comme indispensables pour le Rat et le Pigeon, lui donnèrent le nom de *vitamine D* ou *vitamine de croissance des micro-organismes* (5). Depuis, SMITH et HENDRICK (6), puis HASSAN et DRUMMOND (7) ont reconnu que la fraction des vitamines B des levures qui résiste à l'autoclavage en milieu alcalin est indispensable au Rat ; nous avons démontré nous-même (dans le chapitre précédent) qu'elle n'est vraisemblablement pas moins utile au Pigeon. GOLDBERGER et ses collaborateurs trouvent, à cette même fraction, une action antipellagreuse certaine, qui se manifeste, spécialement sur le chien, par la guérison de la *black-tongue* (maladie expérimentale que l'on considère comme identique à la pellagre humaine) (8). S'agit-il, en définitive, d'une seule et même vitamine ? Tout permet de le supposer jusqu'ici, quoique rien n'autorise à formuler sur ce point une conclusion définitive.

Dans ces conditions, il nous a semblé intéressant de rechercher quelle pouvait être la teneur en cette vitamine de croissance des micro-organismes des différents extraits de levure que nous avons utilisé au cours de nos recherches.

Nous avons examiné à cet effet (9) :

1^o Un extrait alcoolique de levure de bière (*extrait B*) ;

2^o Un extrait alcoolique de levure de distillerie (*extrait D*) ;

(1) J. von LIEBIG. *Ann. Chim. et Phys.*, 1871 [4], 23, p. 5.

(2) E. WILDIERS. *La Cellule*, 1901, 18, p. 311.

(3) R. WILLIAMS. *Journ. of biol. Chem.*, 1919, 38, p. 465 ; F. BACHMANN. *Journ. of biol. Chem.* 1919, 39, p. 235.

(4) G. de PAULA-SOUZA et E. V. Mc COLLUM. *Journ. of biol. Chem.*, 1920, 44, p. 113.

(5) C. FUNK et H. E. DUBIN. *Journ. of biol. Chem.*, 1921, 48, p. 437.

(6) M. I. SMITH et E. G. HENDRICK. *Publ. Health Rep.*, 1926, 41, p. 201.

(7) A. HASSAN et J. C. DRUMMOND. *Biochem. Journ.*, 1927, 21, p. 653.

(8) J. GOLDBERGER, G. A. WHEELER, R. D. LILLIE et L. M. ROGERS. *Publ. Health Rep.*, 1926, 41, p. 297.

(9) C. FUNK et R. LECOQ. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, 97, p. 440.

3° Un extrait alcoolique de levure de bière autoclavé à 130°, en milieu alcalin (*extrait SB*) ;

4° Un extrait standard américain.

La méthode employée pour le dosage de la vitamine a été décrite, en 1920, par FUNK et DUBIN (2). Elle est basée, comme on sait, sur la multiplication des cellules de levure de bière, cultivées en milieu défini (Liqueur de NAEGELI dédoublée) et sur leur mesure, après centrifugation dans un tube capillaire. Guidé par de nombreux essais de tâtonnements, nous avons eu l'idée de rapporter *toutes nos solutions d'extraits à un même poids de levure fraîche initiale*.

Les chiffres particulièrement typiques trouvés au cours de nos dosages ont été consignés dans le tableau suivant :

	Proportion d'extrait p. 100 des solutions essayées (Dose correspondant approximativement à 25 gr. de Levure fraîche initiale)	Activité nette mesurée en mm. (contrôle déduit, soit 2 $\frac{m}{100}$)	
		pour une prise de 0,5 cc.	pour une prise de 0,25 cc.
1. — Extrait de Levure de bière.....	1,125	14,00 16,25	10,25 8,50
2. — Extrait de Levure de distillerie	1,5	13,00 11,50	6,50 7,50
3. — Extrait de Levure autoclavé	0,9	13,00 13,00	7,50 8,50
4. — Extrait de Levure américain	0,625	12,25 12,50	8,50 8,50

Il est assez curieux de constater que ces chiffres sont très voisins les uns des autres. Sans attribuer à ces résultats une rigueur absolue que la méthode ne comporte pas, il semble cependant que, dans la limite des expériences, on puisse tirer la conclusion suivante : Quelle que soit la source de levure utilisée, quelle que soit la méthode d'extraction et même quel que soit le traitement subi, la quantité de vitamine D (ou de croissance des micro-organismes) reste proportionnellement la même par rapport à la quantité de levure fraîche initiale utilisée.

C'est donc ce « bios », cette vitamine particulière, présente dans la fraction autoclavée en milieu alcalin, qui serait indispensable au développement des levures — à tel point qu'elle se rencontre approximativement dans les mêmes proportions dans toutes les levures — et qu'on la trouve à l'origine des vitamines

antinévritique et d'utilisation nutritive synthétisées par ces mêmes levures, quand elles ne peuvent les puiser toutes formées dans leurs milieux de culture.

Ces faits sont, du reste, en accord avec les récentes observations de HAWKING (1) et de PESKETT (2).

CONCLUSIONS

I. — Les levures ne renferment de fortes proportions de vitamine antinévrétique qu'autant que leur milieu de culture en contient lui-même des quantités notables.

II. — Il semble que les levures soient capables d'élaborer la vitamine d'utilisation nutritive, mais qu'elles n'arrivent qu'assez difficilement, à faire la synthèse de la vitamine antinévrétique.

III. — La vitamine antinévrétique ainsi synthétisée est beaucoup plus sensible aux agents extérieurs qu'on ne l'imagine habituellement puisqu'une opération aussi simple que la dessiccation à l'air libre, effectuée aux environs de 50°, suffit à la détruire en grande partie.

IV. — L'extrait de malt constitue un meilleur milieu de culture que la mélasse de canne et cette dernière est elle-même supérieure à la mélasse de betterave.

V. — Le « bios » ou vitamine de croissance des micro-organismes (qui subsiste dans les extraits de levure, même après autoclavage en milieu alcalin) est indispensable à la vie et au développement des levures. Ce serait à ses dépens ou à la faveur de sa présence que les levures synthétiseraient les autres vitamines.

(1) F. HAWKING. *Biochem. Journ.*, 1927, 21, p. 728.

(2) G. I. PESKETT. *Biochem. Journ.*, 1927, 21, p. 1102.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

De l'ensemble de faits précédemment exposés qui s'appuient sur de très nombreuses expérimentations, il nous semble possible de tirer les conclusions générales suivantes :

I. — Pour l'étude des vitamines B des levures et des extraits de levure, le Pigeon est un réactif biologique plus sensible que le Rat ; chaque fois qu'il sera possible, on devra donc lui donner la préférence.

II. — Le régime synthétique et défini, uniquement privé de vitamines B, proposé par Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET pour l'étude de l'avitaminose B chez le Pigeon et pour l'essai biologique des substances riches en vitamines B, nous a toujours donné satisfaction.

III. — Toutefois, il importe, dans la constitution de ce régime, d'utiliser la dextrine *blonde*, préparée à partir de la fécule par dextrination et grillage, de préférence à la dextrine *blanche*, obtenue par simple dextrination.

IV. — Toutes les levures sont loin d'avoir la même valeur biologique en tant que sources de vitamines B. Il en est de même des extraits préparés, dans des conditions identiques en partant de ces levures.

V. — La levure de bière cultivée sur malt houblonné, donnée à des Pigeons à titre préventif ou curatif, jouit d'une activité bien supérieure à la levure de distillerie sur mélasse de betterave.

VI. — La richesse de l'extrait de malt en vitamines B et l'absence même de ces vitamines dans la mélasse de betterave montrent que l'activité biologique des levures est, au moins, dans une certaine mesure, en rapport avec la nature des substances qui entrent dans la composition de leur milieu de culture.

VII. — Cependant, la levure de distillerie cultivée sur mélasse de betterave paraît apte à synthétiser un peu du facteur antinévrétique qui peut être caractérisé dans la levure *fraîche* ou *desséchée dans le vide à basse température*, mais ne se retrouve plus dans la levure finement vermicellée et séchée *à l'air*, à la température de 50°.

VIII. — La levure de bière et son extrait, ajoutés à un régime uniquement privé de vitamines B, assurent l'entretien des Pigeons et agissent en même temps comme préventifs et comme curatifs de la polynévrite ; ils semblent apporter deux vitamines B : l'une étant un facteur d'équilibre nerveux et l'autre un facteur d'utilisation nutritive.

IX. — La levure de distillerie et son extrait se comportent comme s'ils étaient capables de permettre l'entretien du Pigeon, mais incapables d'empêcher l'éclosion des crises de polynévrite ; ils semblent à peu près dépourvus de facteur antinévrétique, mais riches en facteur d'utilisation nutritive.

X. — Pour un même taux de glucides dans la ration, quand on emploie des sucres très vite absorbés (comme le glucose) la proportion de vitamines B nécessaire pour l'entretien de la santé du Pigeon atteint son maximum. Quand on utilise des sucres qui passent très rapidement dans les urines (comme le galactose), on observe exceptionnellement, *malgré l'addition de fortes quantités de vitamines B*, la production d'*accidents polynévritiques aigus*.

XI. — Une insuffisance légère, portant à la fois sur les deux vitamines B : facteur d'utilisation nutritive et facteur antinévrétique, détermine chez le Pigeon la production d'un *syndrome polynévritique récidivant*.

XII. — Une insuffisance nette portant uniquement sur la vitamine antinévrétique produit un *syndrome polynévritique chronique*, avec des survies plus ou moins longues suivant la dose et *suivant le degré de résistance individuelle* des animaux.

XIII. — La vitamine d'utilisation nutritive paraît intervenir spécialement dans le métabolisme des glucides ou hydrates de carbone.

XIV. — Il est possible de séparer très simplement la vitamine antinévrétique et la vitamine d'utilisation nutritive de l'extrait de levure de bière, au moyen de la terre à foulon, qui fixe plus facilement ou plus rapidement la première que la seconde. Pour obtenir une meilleure source de vitamine antinévrétique, il convient d'opérer en *milieu alcoolique* ; inverse-

ment, pour obtenir une meilleure purification de la vitamine d'utilisation nutritive, il est préférable d'opérer en *milieu aqueux*.

XV. — La fraction autoclavée en milieu alcalin des extraits de levure paraît renfermer un facteur *thermostable* aussi utile pour le Pigeon que les deux vitamines étudiées, qui sont au contraire plus ou moins *thermolabiles*.

XVI. — Les levures semblent avoir également besoin, pour se développer, du facteur thermostable de la fraction autoclavée en milieu alcalin ; par contre, elles pourraient synthétiser un peu de facteur antinévritique et beaucoup de vitamine d'utilisation nutritive, vraisemblablement aux dépens ou à la faveur du facteur thermostable.

BIBLIOGRAPHIE

OUVRAGES GÉNÉRAUX

- C. FUNK. — *Die Vitamine, Ihre Bedeutung für die Physiologie und Pathologie*. Wiesbaden, 1914 ; 2^e édition, Munich, 1922 ; 3^e édition, Munich, 1924. — *The vitamins*, 2^e édition, traduite par H.-E. DUBIN, Baltimore, 1922.
- P. MICHEL. — *Essai sur la carence alimentaire*. Thèse Doct Méd., Lyon, 1916.
- G. SCHAEFFER. — *Les travaux récents sur le besoin qualitatif d'azote et les vitamines*. Paris, 1918.
- E. WEILL et G. MOURIQUAND. — *L'alimentation et les maladies par carence*. Paris, 1919.
- E.-V. MC COLLUM. — *The newer know edge of nutrition*. New-York, 1919 ; 2^e édition, 1922.
- P. PORTIER. — *Nutrition et fécondation. Essai sur la nature des vitamines et leur mode d'action*. Paris, 1920.
- R. LECOQ. — *Les nouvelles théories alimentaires*. Paris, 1920.
- W. H. EDDY. — *The vitamine manual*. Baltimore, 1921.
- R. MAC CARRISON. — *Studies in deficiency diseases*. Londres, 1921.
- E. WEILL, G. MOURIQUAND et F. RATHERY. — *Traitement préventif et curatif des maladies par carence*. XVI^e Congrès français de Médecine, Paris, 1922.
- R. LECOQ. — *Les maladies par carence*. Paris, 1922.
- G. MOURIQUAND. — *Les maladies par carence*. In *Traité de Pathologie médicale et de Thérapeutique appliquée*, XXII. Paris, 1922.

- J LOPEZ-LOMBA. — *Etudes expérimentales et critiques sur l'avitaminose*. Thèse Doct. ès-Sc., Paris, 1923.
- P. PORTIER. — *Vitamines. Physiologie comparée et Océanographie*. Paris, 1924.
- C. FUNK (avec la coopération de R. LECOQ). — *Histoire et conséquences pratiques de la découverte des vitamines*. Paris, 1924.
- G. H. ROGER. — *Vitamines et Avitaminoses*. In Nouveau Traité de Médecine VII. Paris, 1924.
- Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET. — *La question des vitamines. III. Le facteur hydrosoluble B*. Paris, 1925.
- C. FUNK. — *Die Methoden der Vitaminforschung*. Berlin, s. d.
- Mme L. RANDOIN et H. SIMONNET. — *Les données et les inconnues du problème alimentaire. II, La question des vitamines*. Paris, 1927.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Introduction.	5
CHAPITRE I. — Choix d'un régime de base satisfaisant et d'un animal-réactif sensible pour l'étude des vitamines des levures	9
CHAPITRE II. — Levures et extraits de levure envisagés comme sources de vitamines B.	17
CHAPITRE III. — Influence de la nature des glucides ali- mentaires sur la production d'états polynévritiques variés, en l'absence et présence de levures ou d'extraits de levure.	27
CHAPITRE IV. — Essai de séparation, au moyen de la terre à foulon, des vitamines antinévritique et d'utilisation nutritive de la levure de bière ; caractérisation probable d'un troisième facteur	41
CHAPITRE V. — Recherches comparatives sur l'élabora- tion des vitamines B par les levures cultivées sur extrait de malt, sur mé- lasse de betterave et mélasse de canne à sucre	50
Conclusions générales	61
Bibliographie	65

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Les levures symbiotes des Insectes

VU ET APPROUVÉ

Paris, le 16 Juin 1928

Le Doyen de la Faculté des Sciences

C. MAURAIN

VU

et permis d'imprimer

Le Recteur
de l'Académie de Paris

S. CHARLÉTY

Atelier Monotypia, Paris

